

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 941**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 47/10 (2007.01)

A61P 27/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.09.2017** **PCT/US2017/053271**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.03.2018** **WO18058048**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2017** **E 17780606 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2024** **EP 3515406**

54 Título: **Depósitos intracamerales para administración de fármacos**

30 Prioridad:

23.09.2016 US 201662398985 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.11.2024

73 Titular/es:

INCEPT, LLC (100.0%)
6 Porter Lane
Lexington, MA 02420, US

72 Inventor/es:

SAWHNEY, AMARPREET, S.;
DRISCOLL, ARTHUR;
BLIZZARD, CHARLES, D.;
DESAI, ANKITA, DARSHAN y
JARRETT, PETER

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 989 941 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Depósitos intracamerales para administración de fármacos

5 SECTOR TÉCNICO

El sector técnico se relaciona con materiales y procedimientos de administración de fármacos para tratar una afección ocular, en particular la administración de fármacos desde un depósito compuesto de hidrogel y micropartículas ubicado en un ojo para tratar una enfermedad ocular.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Los fármacos para el tratamiento de un ojo requieren un medio de administración adecuado para ser efectivos. La administración de fármacos se refiere a la administración de un compuesto farmacéutico para lograr un efecto terapéutico en humanos o animales. Los mecanismos de administración que proporcionan la liberación de un agente a lo largo del tiempo son útiles. Las tecnologías de administración de fármacos pueden ayudar a mejorar la eficacia y seguridad de los fármacos, así como la comodidad y el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente.

20 CARACTERÍSTICAS

El ojo presenta múltiples desafíos para los dispositivos de administración sostenida de fármacos, aunque dichos dispositivos, si son efectivos, tienen muchos beneficios. Se dan a conocer materiales y procedimientos que proporcionan la liberación a largo plazo de otros agentes terapéuticos.

Una realización de la invención es un procedimiento para tratar un ojo por una afección ocular, comprendiendo el procedimiento la colocación de un depósito compuesto que comprende un xerogel con partículas hidrolíticamente degradables incrustadas en una cámara anterior de un ojo para administrar un agente terapéutico, siendo el xerogel un hidrogel después de la exposición al fluido intraocular, siendo el hidrogel hidrolíticamente degradable, en la que las partículas hidrolíticamente degradables comprenden el agente terapéutico y se degradan hidrolíticamente en la cámara anterior para proporcionar una liberación controlada del agente terapéutico en el ojo, en la que un índice de retención de residuos del depósito (IRR) es menor que 1, siendo IRR un tiempo hasta la disolución completa del depósito dividido por un tiempo hasta la liberación del 100 % del agente terapéutico. Las realizaciones incluyen procesos para elaborar el depósito y su uso para tratar una enfermedad o una afección médica.

Otra realización de la invención es una composición de depósito que comprende un xerogel con partículas hidrolíticamente degradables incrustadas, siendo el xerogel un hidrogel biocompatible después de la exposición al fluido intraocular, siendo el hidrogel hidrolíticamente degradable, en la que las partículas hidrolíticamente degradables comprenden un agente terapéutico y se degradan hidrolíticamente en un fluido fisiológico para proporcionar una liberación controlada del agente terapéutico, para su uso en el tratamiento de una enfermedad ocular.

40 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1A representa un depósito compuesto de hidrogel colocado en una cámara anterior del ojo, en el ángulo iridocorneal;

las figuras 1B-1D son imágenes de ultrasonido de un depósito de hidrogel en la cámara anterior del ojo, en el ángulo iridocorneal, en un beagle, a 1 mes (1B), 3 meses (1C) y 4 meses (1D) después de la introducción;

la figura 2 representa un hidrogel u organogel que se seca para formar un xerogel;

la figura 3 representa la formación de un xerogel y su hidratación en un medio acuoso;

la figura 4 representa un proceso para fabricar micropartículas;

la figura 5 representa un proceso para fabricar matrices reticuladas para su uso en la administración de un agente terapéutico;

la figura 6 representa una matriz reticulada con partículas de diversos tamaños que contienen el agente;

la figura 7 es un gráfico de datos que muestra la liberación de un agente en condiciones fisiológicas simuladas;

las figuras 8A-8D son una imagen de un depósito compuesto que se administra a una cámara anterior, ordenadas secuencialmente en el tiempo como se indica;

la figura 9 es una fotografía de matrices reticuladas en una cámara anterior a los 3 días de la colocación, en condiciones fluorescentes;

las figuras 10A-10F son un fotomontaje de los resultados del Ejemplo 4, demostrando resultados que indican la administración efectiva de un agente a un ojo, en el día 0 (10A), día 3 (10B), día 7 (10C), día 28 (10D), día 70 (10E) y día 140 (10F);

las figuras 11A-11D son un fotomontaje de un depósito compuesto en la cámara anterior fotografiado el día 28 en condiciones naturales (11A, 11B) y de fluorescencia (11C, 11D);

la figura 12 es una imagen de un depósito del experimento del Ejemplo 4 fotografiado el día 56 en condiciones de fluorescencia;

la figura 13 es un gráfico de datos que muestra los niveles de fármaco en el humor acuoso a partir de la liberación de un agente desde un depósito compuesto a una cámara anterior;

la figura 14 es un gráfico de datos del Ejemplo 6 que muestra la liberación *in vitro* de depósitos compuestos de dosis travoprost de alta y baja utilizando un medio de disolución de 1X PBS, 0,5 % de aceite de ricino hidrogenado polioxil 40, 0,01 % de fluoruro de sodio, pH 7,2-7,4 realizado a 37 °C;

las figuras 15A-15C son imágenes del Ejemplo 6 que muestran un depósito en el mismo ojo de beagle a los 3 días (15A) y 4 meses (15B) después de la colocación y la ausencia del depósito a los 4,5 meses (15C); y,

la figura 16 es un gráfico de la liberación *in vitro* de travoprost a partir de insertos de hidrogel a 37 °C en 1X PBS con 0,5 % de aceite de ricino y 0,01 % de NaF, pH 7,3 en condiciones estáticas (sin agitación) y continuas (con agitación).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

Una realización de la invención es un procedimiento para tratar un ojo por una afección ocular, que comprende colocar un depósito compuesto de xerogel y micropartículas en una cámara anterior de un ojo para administrar un agente terapéutico, siendo el xerogel un hidrogel después de la exposición al fluido intraocular y que comprende partículas que liberan de manera controlada un agente terapéutico en el ojo después de la colocación del depósito en el ojo. Los materiales y composiciones para el xerogel, las partículas, los agentes y los hidrogeles también son aspectos de la invención, así como los procesos de elaboración, uso, procedimientos de administración y tratamiento de afecciones oculares. La figura 1A representa un depósito de hidrogel colocado en una cámara anterior del ojo, en el ángulo iridocorneal. Otras realizaciones incluyen la liberación de agentes que se dispersan en el hidrogel sin encapsulación, ya sea además de, o como alternativa a la administración de agentes que están en partículas.

La cámara anterior que se muestra en la figura 1A es un espacio lleno de fluido dentro de un ojo, entre el iris y el endotelio corneal. La cámara anterior tiene habitualmente entre 2,5 y 3,5 mm de profundidad en los ojos sanos de los adultos humanos. El fluido de la cámara anterior es el humor acuoso y se drena principalmente a través de la malla trabecular ubicada en el ángulo iridocorneal del ojo. La malla trabecular se drena por canales de salida, en particular el canal de Schlemm. El humor acuoso se produce constantemente en el cuerpo ciliar y fluye a través de la cámara anterior hacia la malla trabecular, creando así un campo de flujo continuo en la cámara anterior. El drenaje deficiente de la cámara anterior puede provocar patologías oculares, siendo el hifema, la hipertensión ocular y el glaucoma las más destacadas. En el hifema, la sangre llena la cámara anterior. En el glaucoma, el bloqueo del drenaje de fluido hacia el canal de Schlemm provoca un aumento de la presión intraocular que conduce a la ceguera. Algunas afecciones hacen que la profundidad de la cámara anterior disminuya, lo que puede bloquear el drenaje a través de la malla trabecular. La administración de agentes a la cámara anterior sería de interés para los agentes que actúan sobre las vías de drenaje de la cámara. Por ejemplo, se cree que el travoprost es un agente que aumenta el drenaje hacia el canal de Schlemm. En referencia a la figura 1A, la cámara anterior está debajo de la córnea y está conectada al humor vítreo del ojo por la cámara posterior ubicada entre el iris y el cristalino. El cristalino está anclado por los procesos ciliares. La malla trabecular se drena a través de canales de salida. Un hidrogel para la administración de un agente terapéutico se encuentra en el ángulo iridocorneal. Las figuras 1B-1D son imágenes de ultrasonido de un depósito de hidrogel en la cámara anterior del ojo, en el ángulo iridocorneal, en un beagle, 1 mes, 3 meses y 4 meses después de la colocación.

Sin embargo, la cámara anterior es pequeña, tiene tejidos sensibles y forma parte de los mecanismos del ojo para pasar la luz al interior del ojo. La administración de fármacos en cualquier parte del ojo está sujeta a múltiples desafíos y requisitos de diseño contrapuestos. Por un lado, el ojo es un órgano sensible y la frecuencia de colocación de depósitos en el ojo idealmente debería minimizarse para que el paciente no tenga que soportar molestias e inconvenientes repetidos. Por lo tanto, se debe introducir la mayor cantidad posible del agente a la vez y el agente debe administrarse en una cantidad efectiva durante el mayor tiempo posible; estas condiciones indican que se trata

de un depósito grande. Pero el ojo tiene un volumen limitado y no tolerará dispositivos grandes. Y el trauma en el momento de la colocación se minimiza haciendo que el depósito sea lo más pequeño posible. Además, los agentes son terapéuticos sólo en una concentración adecuada, ya que una concentración demasiado baja es ineficaz y una concentración demasiado alta tiene un efecto tóxico. Además, es un desafío diseñar y fabricar depósitos que liberen agentes en la cantidad correcta durante la vida útil del depósito. En la cámara anterior, el endotelio corneal es particularmente sensible al trauma. Y el propio depósito puede provocar respuestas biológicas no deseadas que confundan los esfuerzos por administrar los agentes de forma segura. Estas respuestas pueden deberse a la elección de los materiales, el tamaño del depósito, la proximidad o el contacto con determinadas partes del ojo, la liberación del agente, la química del agente y otros factores. Además, el campo de flujo del fluido de humor acuoso en la cámara anterior influirá en las tasas de liberación del fármaco con respecto a los diseños habituales de depósitos de liberación sostenida, que pueden variar de un paciente a otro, lo que dificulta el control de la farmacocinética de la administración del fármaco. Existe un campo de flujo algo más lento en el humor vítreo. En este sentido, la cámara anterior, y en menor medida el humor vítreo, presentan un entorno más desafiante para la administración sostenida del fármaco que otras partes de la anatomía humana. En conjunto, existen varias consideraciones de diseño contradictorias que actúan en contra de una administración prolongada de agentes desde depósitos en el ojo o la cámara anterior.

Las realizaciones de la invención incluyen un depósito compuesto que contiene un componente de xerogel cuando se administra a un paciente que es un hidrogel en entornos de solución acuosa, por ejemplo, como en las figuras 2-6. El xerogel es pequeño en relación con el hidrogel para minimizar el tamaño de las agujas u otras herramientas utilizadas para la colocación. El hidrogel contiene partículas que contienen el agente o los agentes que se van a administrar. El agente se dispone en micropartículas biodegradables, tales como PLGA, que se degradan en agua para liberar el agente. Las micropartículas se pueden elegir para crear un perfil de liberación para el agente que sea adecuado para su sitio de colocación y las concentraciones de agente requeridas en el ojo.

Se proporcionan ejemplos prácticos de liberación exitosa de sistemas de liberación de agentes terapéuticos de xerogel/micropartícula de hidrogel *in vitro* e *in vivo*. Sin limitarse a una teoría en particular, parece que los sistemas interactuaron con el humor acuoso (HA) de una manera que proporcionó una excelencia inesperada, sorprendente e imprevista en biocompatibilidad y control de la velocidad de administración del fármaco. El fluido HA fluye radialmente desde el centro del iris hacia afuera a través de la malla trabecular. Este flujo es constante, pero puede variar entre pacientes.

Las partículas de material hidrolíticamente degradable se erosionan más lentamente en una solución acuosa fisiológica u otra solución acuosa en reposo en comparación con una solución en movimiento (descrita en este documento como un campo de flujo). La difusión es un factor de control en una solución en reposo, pero el movimiento de la solución (convección) aumenta la velocidad de liberación del fármaco desde una partícula desprotegida. En un campo de flujo, se espera que una matriz de liberación de fármaco hidrolizable, tal como PLGA, libere el fármaco más rápidamente que en un medio en reposo, debido a una eliminación más rápida del fármaco liberado de la zona interfacial partícula-agua junto con una erosión más rápida de las partículas, debido a la eliminación de los productos de hidrólisis de la zona interfacial. Dicha aceleración de la liberación de fármaco se ha documentado en la bibliografía. Véase S. D'Souza, J. A. Faraj, P. P. DeLuca, "Unstirred Water Layer Effects on Biodegradable Microspheres," *Advances in Pharmaceutics* 2015. D'Souza *et al.*, probaron la liberación de un agente a partir de partículas degradables en condiciones de reposo y en un campo de flujo (agitación continua, es decir, en un cilindro de vidrio con tapón de 50 ml, las microesferas se sometieron a una agitación moderada utilizando una varilla de agitación magnética suficiente para garantizar una buena capacidad de suspensión de las microesferas en el medio de liberación y una sedimentación mínima en el recipiente de liberación) e informaron que los perfiles de liberación *in vitro* para las condiciones de agitación estática y continua fueron "drásticamente diferentes". Por lo tanto, se esperaba que el humor acuoso circulante acelerara la degradación de las partículas y la velocidad de liberación de los agentes desde las partículas. Pero la velocidad de administración del fármaco desde las partículas no se vio afectada sustancialmente por el fluido trabecular circulante hasta que el hidrogel estaba muy avanzado en su degradación. Los resultados experimentales que demuestran este fenómeno de protección se presentan en el Ejemplo 7, a continuación. Aparentemente, los hidrogeles protegieron las partículas de las fuerzas del fluido convectivo en la cámara anterior, limitando la liberación del fármaco únicamente al control de la difusión. El espesor de la capa de hidrogel influirá en la magnitud del efecto de protección. Aunque se podría esperar que el campo de flujo acelerara las tasas de liberación, esto no se observó.

Un hidrogel debe proporcionar un espesor adecuado alrededor de las partículas atrapadas del fármaco para proporcionar el efecto de protección. En el contexto de un depósito compuesto, el peso de la matriz de hidrogel debe ser al menos un 30 % en comparación con el peso de las partículas que contienen el agente en el hidrogel más el peso de la matriz de xerogel cuando el depósito está seco. En consecuencia, concentraciones de 30 %, 33 %, 35 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % p/p; los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente. La matriz de hidrogel es la red reticulada formada por la reticulación de moléculas precursoras para formar el hidrogel. Los expertos pueden determinar estos pesos; por ejemplo, el peso del depósito seco total se puede calcular conociendo todos los componentes utilizados para formar el depósito o simplemente midiéndolo, y el peso de los precursores utilizados para formar el hidrogel se puede conocer o calcular en función de la composición del precursor utilizado para formar el hidrogel. Estas mediciones se deben realizar en agua destilada para simplificar, ya que los productos están diseñados para usarse en una solución fisiológica en la que las sales no contribuyen de manera significativa al peso en comparación con los otros

componentes. Los depósitos también se deben diseñar para que persistan durante un período de tiempo adecuado para la aplicación, como se analiza a continuación en el contexto de un índice de retención de residuos de depósito (IRR). El hidrogel también se debe elegir para que tenga una resistencia mecánica adecuada y estabilidad durante un período de tiempo previsto para la administración del agente; los factores de diseño del hidrogel se analizan a continuación en detalle. En general, el contenido de matriz de al menos 30 % p/p mencionado anteriormente es el preferente para estos fines y es útil tener uno o más precursores con al menos 3 puntos de reticulación, siendo preferentes 4 o más; estos factores se analizan más adelante.

Los hidrogeles normalmente pueden permitir que el agua se difunda libremente a través de una matriz de hidrogel. Y, en general, se puede esperar que los hidrogeles que tienen un tamaño de malla mayor que el tamaño de los agentes en el hidrogel liberen habitualmente agentes sin grandes efectos en su velocidad de liberación, siempre que los agentes sean solubles en la solución y no interactúen con la matriz. Si bien no se está limitado por una teoría en particular, se cree que, en un depósito compuesto de un hidrogel y partículas degradables que contienen un agente terapéutico, el agente se libera desde la superficie de la micropartícula y se difunde a través del hidrogel hasta la superficie del hidrogel, con una disminución consecuente de la concentración en la superficie de acuerdo con la ley de Fick. La velocidad de liberación del agente se determina entonces por la concentración reducida en la superficie del hidrogel, por lo que el espesor de la capa de hidrogel afecta la velocidad de liberación. Las partículas se eligen para liberar el agente a una velocidad que coopera con el área superficial del hidrogel. Los Ejemplos describen varios ejemplos prácticos que demuestran lo mismo.

Se pueden diseñar diferentes composiciones y estructuras de polímeros para cumplir con estos requisitos. Normalmente, se prefieren los hidrogeles reticulados covalentemente con enlaces hidrolizables. Además, en la mayoría de los casos, el hidrogel debe ser inerte con respecto a las interacciones farmacológicas. Por lo tanto, se prefieren los hidrogeles no iónicos sin dominios hidrófobos sustanciales. Por ejemplo, se pueden utilizar precursores hidrófilos que no sean iónicos. Los polietilenglicoles son un ejemplo de una familia de polímeros no iónicos hidrófilos que se pueden utilizar para formar las estructuras de hidrogel preferentes. Los expertos en la materia saben que es posible diseñar hidrogeles para que interactúen con el fármaco que se eluye de una manera que module la velocidad de liberación del fármaco. Sin embargo, en un depósito compuesto, no hay ninguna ventaja en la modulación de la liberación del fármaco por hidrogel, ya que la velocidad de liberación de un depósito se puede establecer para partículas degradables de forma controlada. En consecuencia, las realizaciones incluyen hidrogeles y agentes que están libres de unión específica entre sí y/o unión covalente entre sí. Las realizaciones incluyen depósitos que están libres de uno o más de los siguientes elementos: un tamaño de malla de hidrogel que es menor que el peso molecular del agente (que se analiza a continuación), precursores que tienen dominios hidrófobos, precursores que no son solubles en agua, precursores que se unen específicamente entre sí y precursores que se reticulan entre sí mediante enlaces físicos (no covalentes).

En la práctica, un depósito compuesto permite que las partículas que se degradan hidrolíticamente se utilicen dentro de un hidrogel en un entorno de fluido convectivo sin verse afectadas de forma variable por la variabilidad del campo de flujo de paciente a paciente o la variabilidad del campo de flujo de la ubicación anatómica. Por ejemplo, las micropartículas sin protección se pueden cargar con grandes cantidades de un agente que se liberaría tan rápidamente en un fluido convectivo que las cantidades serían tóxicas. O bien, el hidrogel puede preservar las partículas de una degradación rápida de modo que el depósito pueda durar más de lo que sería posible de otro modo. Ventajosamente, en comparación con las partículas fabricadas para su uso sin un hidrogel de protección, las partículas se pueden diseñar con cantidades menores de materiales degradables y más agente terapéutico, sin crear una partícula débil que de otro modo proporcione una liberación demasiado rápida del fármaco. El fenómeno de protección se utilizó de forma ventajosa para crear hidrogeles para proteger las partículas durante un período de tiempo que permitiera que las partículas completaran, o completaran sustancialmente, la administración de los agentes. Los hidrogeles podrían entonces ser diseñados para degradarse aproximadamente en el momento en que las partículas hayan liberado sus agentes, o poco después de la liberación completa, o ser ajustados para degradarse antes de la liberación completa del fármaco, de modo que la cantidad de agentes liberados aumente después de la desaparición del hidrogel.

El efecto de protección puede usarse no solo para hidrogeles que permiten la libre difusión de agentes, sino también para hidrogeles con una malla más apretada en relación con el agente o agentes que interactúan con el hidrogel.

Además, los hidrogeles en la cámara anterior aparentemente experimentaron erosión superficial en el campo de flujo de la cámara anterior. Los materiales poliméricos sintéticos absorbibles (por ejemplo, PLGA) son generalmente erosionables en masa, es decir, donde la degradación química y la pérdida de masa ocurren a una velocidad uniforme en toda la masa del material. Antes de romperse, el hidrogel se conoce como autocohesivo o monolítico. Si el hidrogel se rompe en pedazos como resultado de la degradación, el hidrogel continuará erosionándose y se disolverá gradualmente, momento en el cual no es visible. En la cámara anterior, hacia el final de la hidrólisis en masa del hidrogel, la degradación del hidrogel expuso gradualmente las micropartículas incrustadas. Las partículas expuestas que contenían el agente se erosionaron rápidamente y desaparecieron. Para cuando el hidrogel se había desintegrado, la mayor parte del agente se había liberado o se había liberado prácticamente por completo, de modo que cualquier liberación restante del agente proporcionó solo una dosis baja de fármaco que no era potencialmente dañina para el ojo. En ciertas realizaciones, la matriz de hidrogel se disolverá y las micropartículas dentro de la cubierta que transportan un agente terapéutico continuarán proporcionando una liberación sostenida del fármaco en el entorno

circundante para una terapia continua. Una vez que se completa la liberación del fármaco, la matriz de micropartículas continuará biodegradándose para su posterior eliminación del sitio de inyección.

Uno de los problemas en el ojo y en la cámara anterior en particular es que los materiales degradables para la liberación de los agentes pueden tener una biocompatibilidad deficiente en relación con un hidrogel. Los materiales degradables relacionados con partículas pueden ser ácidos y, en concentraciones bajas, se toleran razonablemente, pero, en cantidades más altas, pueden crear condiciones locales desfavorables. El ácido poli(glicólico) (PGA), el ácido poli(láctico) (PLA), el ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) son materiales que crean productos de degradación ácidos. Otros han utilizado varillas de PLGA que se erosionan, pero son menos biocompatibles que los hidrogeles y se ha observado que persisten mucho tiempo después de que haya transcurrido su vida útil de administración del fármaco. El tratamiento repetido, como en el caso de las enfermedades crónicas, podría provocar la acumulación de material de matriz de depósito vacío en el tejido del paciente. Dado que las varillas están en contacto directo con el tejido local y el PLGA tiene limitaciones en cuanto a su biocompatibilidad, dichos materiales son menos biocompatibles que un hidrogel. Además, pueden pasar por una etapa de fragmentación, donde los fragmentos sobrantes tienen una gran superficie y liberan una ráfaga de productos de degradación ácidos al final de su ciclo de vida. Volviendo a ciertos aspectos de la invención, la distribución de PLGA u otros materiales degradables relacionados con partículas, después de la desaparición de la protección de hidrogel, en partículas pequeñas proporciona una gran área superficial que aprovecha los efectos de erosión de la superficie para degradar los materiales degradables relacionados con partículas. Además, dado que las micropartículas de la invención no necesitan resistencia mecánica, la carga de fármaco en la micropartícula puede ser mayor que los formatos monolíticos de la misma composición, de modo que la cantidad total del material degradable relacionado con partículas puede ser mucho menor en comparación con una varilla grande o una estructura monolítica, lo que hace que las concentraciones del producto de degradación sean menores y cualquier degradación de ráfaga final sea menor o insignificante. Esto es visualmente evidente cuando las formulaciones de micropartículas de PLA individuales preparadas por separado se mezclan por peso para lograr un perfil de liberación sostenida objetivo, por ejemplo, la figura 7. Las micropartículas preparadas con pesos moleculares de PLA más bajos liberan su fármaco por completo y luego proceden a desaparecer dentro de la matriz de hidrogel dejando atrás un efecto visual de "queso suizo" indicativo de que los componentes de PLA se están licuando y se están liberando a través de la matriz de hidrogel. Las micropartículas de PLA preparadas con pesos moleculares más altos liberan el fármaco más lentamente y los restos de micropartículas pueden o no estar presentes cuando el hidrogel ha alcanzado un estado licuado. En general, esta estructura compuesta minimiza la exposición del tejido a los materiales degradados de PLA o PLGA hasta que el hidrogel se haya degradado por completo, mientras que la inyección de productos o dispositivos farmacológicos de liberación sostenida de PLA o PLGA no protegidos convencionales expone los tejidos a un contacto prolongado y extenso con los materiales de la matriz (PLA o PLGA, etc.) que pueden provocar una respuesta inflamatoria tisular localizada.

Un residuo de material que excede la vida útil de administración del fármaco es problemático para las enfermedades crónicas que requieren la colocación repetida en serie de depósitos, por ejemplo, como en el glaucoma. En un caso de depósito de larga duración, múltiples depósitos vacíos pueden acumularse en el ojo o requerir su eliminación. Estos depósitos pueden incluso provocar enfermedades inflamatorias. Es deseable que el residuo del depósito salga del ojo poco después de administrar su carga útil de agentes terapéuticos. Un índice de retención de residuos de depósito (IRR) se define como el tiempo hasta la disolución completa del depósito que comprende un agente terapéutico dividido por el tiempo hasta la liberación del 100 % del agente terapéutico. Si un depósito administra el fármaco durante 0,5 años y luego permanece en el ojo durante 2 años, el índice de retención de residuos de depósito es 4. En general, se desea que el índice se acerque a un valor de 1. Para las enfermedades crónicas que requieren depósitos en serie, un índice de 2 daría como resultado la presencia de dos depósitos en el ojo después de la primera reintroducción. Un valor de índice de 3 daría como resultado una acumulación de tres cuerpos de depósito después de la segunda reintroducción. Un índice creciente de retención de residuos de depósito correspondería entonces a un número creciente de cuerpos de residuos de depósito que se acumulan en el sitio de depósito. Si, por ejemplo, el sitio de depósito es la cámara anterior del ojo, la acumulación de cuerpos de residuos de depósito podría afectar la visión, dañar los tejidos locales debido al impacto, dañar el tejido local debido a una producción creciente de productos de degradación u otros efectos perjudiciales. Para evitar la acumulación de cuerpos de residuos de depósito, se desea que el índice de retención de residuos de depósito sea menor que 1. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0. En el caso de un depósito que comprende un hidrogel bioabsorbible que contiene partículas bioabsorbibles que comprenden un fármaco, la porción de hidrogel, que es la mayoría de la masa del depósito cuando está hidratada, puede estar diseñada para desaparecer (degradarse completamente) antes del punto de liberación total del fármaco. En este caso, el índice de retención del depósito sería menor que 1, ya que la mayor parte de la masa del depósito y la forma monolítica se habrán eliminado en ese punto, dejando solo micropartículas desconectadas. De manera similar, un depósito degradable que comprende un agente terapéutico que se libera del depósito tiene un índice de tiempo de retención de residuos de depósito que es un tiempo hasta la degradación (medible por desaparición) dividido por el tiempo hasta la liberación de todo el agente.

Las figuras 1A-1D representan una matriz reticulada que es un hidrogel en una cámara anterior del ojo, en el ángulo iridocorneal. El hidrogel puede ser un xerogel antes de colocarlo en el ojo, como en la figura 2, que muestra cómo se puede hacer un xerogel mediante varios procesos para que cambie de forma selectivamente al exponerse a medios

acuosos, como en la figura 3, véase también el documento US 2017/0143636. Los agentes para liberación desde las matrices se pueden preparar como partículas, por ejemplo, partículas que tienen una propiedad de liberación controlada, y combinarse con las matrices, como en las figuras 4-5. Los tamaños o el contenido de las partículas se pueden ajustar, como en la figura 6, para hacer que las partículas liberen los agentes a diferentes velocidades y períodos de tiempo, siendo la figura 7 un ejemplo de un perfil de liberación. El hidrogel se puede introducir en la cámara anterior, por ejemplo, como en las figuras 8A-8D y se visualiza en la figura 9.

El ejemplo 1 describe la preparación de un depósito. El depósito es un depósito compuesto de hidrogel de liberación sostenida. Los depósitos se elaboraron con micropartículas degradables que comprenden el agente terapéutico travoprost, que se utiliza convencionalmente como una solución oftálmica que se aplica como un medicamento tópico para controlar la progresión del glaucoma o la hipertensión ocular, al reducir la presión intraocular. Travoprost es un análogo sintético de la prostaglandina F 2 α . Su nombre químico es (Z)-7-[(1R,2R,3R,5S)-3,5-dihidroxi-2-[(1E,3R)-3-hidroxi-4-[(α,α,α -trifluoro-m-tolil)oxi]-1-butenil]ciclopentil]-5-heptenoato de isopropilo. Es un análogo de la prostaglandina que se convierte enzimáticamente a una forma de ácido libre en el estroma de la córnea humana. El ácido libre de travoprost es un agonista selectivo del receptor de prostanoïdes FP que se cree que reduce la presión intraocular al aumentar la red trabecular y el flujo uveoescleral. El mecanismo de acción exacto del travoprost sigue siendo desconocido en este momento. El travoprost es un ejemplo de un agente para uso en un depósito.

Los depósitos del Ejemplo 1 comprenden el ingrediente activo, travoprost; micropartículas de poli(D,L-lactida) (PLA) que contienen travoprost encapsulado; y la plataforma de administración inactiva, una matriz reticulada covalentemente con polietilenglicol (PEG) conjugada con fluoresceína. El hidrogel se fabricó a partir de un polietilenglicol de 15.000 Da de 8 brazos con terminación en adipato de succinimidilo (8a15K PEG SAP) combinado con trilisina. Antes de la reticulación del hidrogel con PEG, una pequeña porción porcentual de la amina en la molécula precursora de trilisina se hizo reaccionar con NHS fluoresceína. La NHS fluoresceína reacciona de manera eficiente con los grupos amino primarios para formar enlaces amida estables. El hidrogel fluorescente resultante se ilumina cuando se lo excita con una fuente de luz azul, tal como una lámpara de hendidura, lo que permite al investigador confirmar la presencia del producto. En el Ejemplo 1, el depósito se formuló para administrar travoprost de una manera de liberación sostenida durante aproximadamente 100 días (véase la figura 7). El depósito compuesto de la FIG. 7 se fabricó de acuerdo con los procesos del Ejemplo 1 y es el mismo que los artículos de prueba, excepto que se modificó la cantidad de micropartículas para proporcionar una dosis de 40 μ g. Como es evidente a partir de la guía proporcionada en este documento con respecto a la fabricación de hidrogeles y vehículos de administración de fármacos, por ejemplo, partículas, los tiempos de administración de hasta aproximadamente 2 años a una dosis terapéuticamente eficaz en un ojo humano son prácticos para un único depósito de hidrogel; se contemplan todos los tiempos de 10 días a 2 años. Las micropartículas de PLA son biorreabsorbibles y se degradan por hidrólisis con el tiempo, lo que proporciona una liberación sostenida de travoprost a niveles terapéuticos. El perfil de liberación sostenida de 100 días se obtiene mezclando micropartículas que encapsulan travoprost preparado con diferentes pesos moleculares de PLA en la matriz de hidrogel.

Los depósitos del Ejemplo 1 tenían los contenidos indicados en la Tabla 1. Los dos artículos de prueba compartían las mismas microesferas mezcladas de polilactida (PLA) cargadas con travoprost y, por lo tanto, se pretende que tengan perfiles de liberación comparables de travoprost del producto farmacéutico en términos de porcentaje. La diferencia entre los dos artículos de prueba es la dosis de travoprost y el diámetro seco (Artículo de prueba 1 con una dosis de 40 μ g de travoprost, 0,25 mm de diámetro o Artículo de prueba 2 con una dosis de 26 μ g de travoprost, $0,21 \pm 0,01$ mm de diámetro \times $3,02 \pm 0,02$ mm de longitud). Como se demuestra en los ejemplos prácticos, ambos artículos de prueba demostraron niveles de fármaco en la cámara anterior durante 112 días que coincidían con el efecto farmacodinámico de la constricción de la pupila (miosis) en el modelo beagle.

Los depósitos se dimensionaron para su colocación en una cámara anterior. Con el tiempo y a través de la hidrólisis, los componentes de hidrogel y PLA se ablandan, se licúan y se aclaran a través de vías de salida de la cámara anterior. Limpiar los canales de la cámara anterior es terapéutico para la hipertensión ocular, el glaucoma y otras afecciones. Los depósitos en la cámara anterior se visualizaron fácilmente utilizando una lámpara de hendidura o luz azul con filtro amarillo durante 56 días. Para el día 84, la porción de hidrogel del depósito se había degradado por completo y no se observó fluorescencia del depósito. Las micropartículas de travoprost permanecieron y continuaron administrando el fármaco a la cámara anterior, lo que demuestra la constricción de la pupila como un efecto farmacodinámico pronunciado. El Ejemplo 2 muestra la liberación controlada *in vitro* de travoprost a partir de depósitos elaborados como en el Ejemplo 1. Solo se requieren dosis bajas para obtener un efecto farmacodinámico con ácido de travoprost. Debido a la mayor potencia del ácido travoprost para los receptores de prostaglandina, se puede administrar una dosis baja en el intervalo de 10 a 100 μ g durante dos años a partir de micropartículas fabricadas, por ejemplo, con polilactidas de alto peso molecular con grupos terminales éster o de policaprolactona (PCL) para administrar cantidades terapéuticas suficientes para la eficacia y la reducción de la PIO.

Si bien PLGA y PLA son los polímeros biodegradables que se emplean con mayor frecuencia para la liberación sostenida de agentes terapéuticos, no son las únicas formas de polímeros biodegradables. PCL se puede emplear para encapsular fármacos dentro de depósitos o micropartículas utilizando procesos similares. PCL también se puede utilizar dentro de un copolímero con PLA, y se ha demostrado que el copolímero es seguro y se emplea en productos médicos aprobados. Por ejemplo, el depósito biodegradable liberador de levonorgestrel hecho de PCL lleno de

levonorgestrel seco (LNG) demostró una liberación de 2 años en ratas y perros. La biodegradación de PCL es lenta en comparación con otros polímeros, por lo que es adecuado para una administración a largo plazo que se extienda durante un periodo de más de 1 año.

Los artículos de prueba 1 o 2 se introdujeron en las cámaras anteriores como se describe en el Ejemplo 3. La Figura 12 es una imagen tomada a los 56 días como se describe en los resultados, que se muestran en el Ejemplo 4. Se demostró una respuesta farmacodinámica deseada a la liberación sostenida de travoprost de OTX-TI mediante la constricción pupilar continua durante 112 días y la presión intraocular (PIO) reducida a los 28 días. Las concentraciones de travoprost en el AH en los beagles muestreados el día 28 fueron similares a la concentración máxima del fármaco (C_{max}) informada en la bibliografía para las gotas oftálmicas de travoprost en humanos. Los resultados mostraron que la porción de hidrogel de los depósitos era persistente en el día 56 y que el travoprost se administró con éxito y tuvo los efectos deseados de acuerdo con una variedad de medidas detalladas en el Ejemplo 4. Durante 56 días, los depósitos permanecieron intactos y luego desaparecieron a los 84 días (no se muestra), dejando atrás el travoprost que contenía micropartículas para liberar el fármaco en la cámara anterior. Se observó que residían en la porción inferior de la cámara anterior en el ángulo iridocorneal. El examen oftálmico mostró una excelente biocompatibilidad con los artículos de prueba. No hubo evidencia de inflamación localizada próxima al depósito y los exámenes oftálmicos demostraron que los ojos se consideraron sanos y normales con las excepciones señaladas de constricción de la pupila debido al efecto anticipado del travoprost y la hiperemia temprana que disminuyó con el tiempo como se muestra en las figuras 10A-10F. Obsérvese la falta de dilatación de los vasos sanguíneos en el día 0 en comparación con los días 3 y 7 y luego la reducción con el tiempo hasta la normalidad para un solo animal durante la duración del estudio. Obsérvese también la constricción de la pupila en el día 0 poco después de la administración.

El Ejemplo 5 describe los resultados de dos experimentos adicionales utilizando depósitos compuestos similares a los realizados en los Ejemplos 1 y 2, con ciertos cambios como se indicó, incluida una dosis menor de travoprost por depósito (18 µg). Estos mostraron una administración exitosa de dosis efectivas del agente terapéutico acompañada de un tratamiento exitoso de la afección ocular utilizando el fármaco. El Ejemplo 6 presenta pruebas adicionales utilizando depósitos compuestos similares con una dosis baja (14 µg) o alta (41 µg) de agente (travoprost). El agente se liberó en una dosis correspondientemente baja o alta, lo que muestra un mayor control de la velocidad y la duración de la liberación y el control de la dosis. Ambas dosis fueron efectivas.

El Ejemplo 7 demostró el efecto protector del hidrogel en un depósito compuesto de hidrogel. Los compuestos que contienen micropartículas se probaron con agitación (como en un campo de flujo) y sin ella (entorno de reposo). Los perfiles de liberación se superpusieron esencialmente durante la duración de la prueba, independientemente de la presencia o ausencia de fuerzas convectivas creadas por la agitación. Estas pruebas demuestran que el hidrogel protegió a las micropartículas de las fuerzas convectivas de la agitación. Por el contrario, como se explicó anteriormente, las fuerzas de convección hacen que las partículas se degraden mucho más rápido que en condiciones de reposo. Es sorprendente que el hidrogel tuviera este efecto protector, considerando que el agua puede difundirse a través de los hidrogeles. Sin estar limitados a una teoría en particular, parece que existe un efecto de capa límite en la superficie del hidrogel que resiste la mezcla convectiva del agua en su superficie.

El efecto protector del hidrogel se puede cuantificar como un coeficiente de aumento del tiempo de administración. Con referencia al Ejemplo 7 y la figura 16, y también a D'Souza *et al.*, figura 3 (no se muestra en este documento), se puede observar que la liberación de un agente se puede medir con un gráfico del porcentaje acumulado de liberación del agente a lo largo del tiempo. Para calcular el coeficiente de aumento del tiempo de administración, se prueba un conjunto de partículas en las condiciones del Ejemplo 7 bajo las mismas condiciones excepto por la presencia o ausencia de un hidrogel que incrusta las partículas. La prueba se realiza hasta que las muestras hayan liberado el 100 % de los agentes. El coeficiente de aumento del tiempo de administración es el tiempo para la liberación completa (100 %) de los agentes en presencia del hidrogel dividido por el tiempo para la liberación completa (100 %) de los agentes sin el hidrogel. Por ejemplo, un conjunto de partículas puede liberar el 100 % de un agente el día 15 sin un hidrogel y liberar los agentes el día 150 con el hidrogel, en cuyo caso el coeficiente de aumento del tiempo de administración es 10.

A continuación se describen varios componentes de los depósitos compuestos; estos componentes pueden combinarse entre sí y usarse de acuerdo con la guía proporcionada en este documento.

Hidrogeles y xerogeles

Los hidrogeles son materiales que no se disuelven en agua y retienen una fracción significativa (más del 20 % p/p) de agua dentro de su estructura. De hecho, a menudo se conocen contenidos de agua superiores al 70, 80 o 90 %. Los hidrogeles pueden formarse mediante la reticulación de moléculas solubles en agua para formar redes de peso molecular esencialmente infinito. Los hidrogeles con un alto contenido de agua son habitualmente materiales blandos y flexibles. Los hidrogeles y los sistemas de administración de fármacos como se describe en las publicaciones de EE. UU. n.º 2009/0017097, 2011/0142936, 2012/0071865 y US 2017/0143636 se pueden adaptar para su uso con los materiales y procedimientos de este documento siguiendo las instrucciones proporcionadas en este documento.

Los hidrogeles se pueden formar como hidrogeles en solución acuosa o como organogeles en solución orgánica, por ejemplo, como en la figura 2. Los hidrogeles incluyen un agente como se proporciona en este documento en varias realizaciones. El término xerogel se refiere a una matriz seca. Después de la formación de la matriz en un disolvente, el disolvente se puede eliminar para formar el xerogel. Los procesos potenciales incluyen, por ejemplo, precipitación o extracción con un no disolvente, secado por barrido de nitrógeno, secado al vacío, secado por congelación, una combinación de calor y vacío y liofilización.

En general, para formar una matriz reticulada que proporcione un hidrogel en una solución acuosa, se hacen reaccionar uno o más precursores. Los precursores forman reticulaciones que evitarán la disolución del hidrogel en agua. Los precursores pueden reticularse mediante un enlace iónico o covalente, una fuerza física u otra atracción. Sin embargo, una reticulación covalente normalmente ofrecerá estabilidad y previsibilidad en la arquitectura del producto reactivo. Para formar matrices reticuladas covalentemente, los precursores se reticulan covalentemente entre sí. En general, los precursores se unen a otros precursores en dos o más puntos, siendo cada punto un enlace al mismo polímero o a diferentes polímeros. Los precursores con al menos dos centros reactivos (por ejemplo, en la polimerización por radicales libres) pueden servir como reticulantes ya que cada grupo reactivo puede participar en la formación de una cadena de polímero en crecimiento diferente. En el caso de grupos funcionales sin un centro reactivo, entre otros, la reticulación requiere tres o más de dichos grupos funcionales en al menos uno de los tipos de precursores. Por ejemplo, muchas reacciones electrófilas-nucleófilas consumen los grupos funcionales electrófilos y nucleófilos, de modo que se necesita un precursor con tres o más grupos funcionales para que los precursores formen reticulaciones. Por lo tanto, dichos precursores pueden tener tres o más grupos funcionales y pueden ser reticulados por precursores con dos o más grupos funcionales. Estos se describen con cierto detalle a continuación.

Los hidrogeles que se dejan hidratar en medios acuosos se hinchan a medida que absorben agua. Cuando se alcanza el equilibrio, el peso total del hidrogel, incluida el agua, es constante y se pueden medir las propiedades del hidrogel en su contenido de agua de equilibrio (EWC); a menos que se indique lo contrario, las mediciones en EWC se toman cuando se permite que un hidrogel se hinche libremente y alcanza un peso constante en solución, habitualmente en unas pocas horas. El EWC es la fracción de agua del hidrogel cuando está completamente hinchado, es decir, en estado estable. El EWC de un hidrogel degradable hidrolíticamente aumentará gradualmente con el tiempo a medida que la hidrólisis aumenta el tamaño de la malla, que se puede medir por el peso molecular entre reticulaciones (M_c).

Preferentemente, el hidrogel tiene un hinchamiento bajo, que se puede medir por el hidrogel que tiene un peso que no aumenta más de aproximadamente el 50 % tras la exposición a una solución fisiológica durante veinticuatro horas en relación con un peso del hidrogel en el momento de la formación.

Materiales precursores

Las matrices reticuladas que proporcionan el hidrogel/xerogel se fabrican a partir de precursores. Los precursores se eligen teniendo en cuenta las propiedades que se desean para el hidrogel resultante y a la luz de la estructura en el momento de la formación, por ejemplo, para la compatibilidad con disolventes orgánicos si la matriz reticulada se forma inicialmente como un organogel. Existen varios precursores adecuados para su uso en la fabricación de matrices reticuladas. El término precursor se refiere a aquellas moléculas reticuladas para formar matrices reticuladas, por ejemplo, una matriz de hidrogel u organogel. Si bien podrían estar presentes otros materiales en el hidrogel u organogel, tales como agentes terapéuticos, partículas para la administración de agentes o rellenos que no están reticulados en la matriz, no son precursores.

Las matrices reticuladas se pueden formar a partir de polímeros naturales, sintéticos o biosintéticos. Los polímeros naturales pueden incluir glicosaminoglicanos, polisacáridos y proteínas. Algunos ejemplos de glicosaminoglicanos incluyen dermatán sulfato, ácido hialurónico, condroitín sulfatos, quitina, heparina, queratán sulfato, queratosulfato y derivados de los mismos. En general, los glicosaminoglicanos se extraen de una fuente natural y se purifican y derivatizan. Sin embargo, también pueden producirse o sintetizarse sintéticamente mediante microorganismos modificados, tales como bacterias. Estos materiales pueden modificarse sintéticamente a partir de un estado naturalmente soluble a un estado parcialmente soluble o hinchable en agua o hidrogel. Esta modificación puede lograrse mediante diversas técnicas bien conocidas, tales como por conjugación o reemplazo de grupos funcionales ionizables o enlazables con hidrógeno, tales como grupos carboxilo y/o hidroxilo o amina, con otros grupos más hidrófobos.

Por ejemplo, los grupos carboxilo del ácido hialurónico pueden esterificarse mediante alcoholes para disminuir la solubilidad del ácido hialurónico. Varios fabricantes de productos de ácido hialurónico utilizan estos procesos para crear láminas, fibras y tejidos a base de ácido hialurónico que forman hidrogeles. Otros polisacáridos naturales, tales como la carboximetilcelulosa o la celulosa regenerada oxidada, la goma natural, el agar, la agrosa, el alginato de sodio, la carragenina, el fucoidano, el furcellarano, el laminarano, la hipnea, la eucheuma, la goma arábiga, la goma ghatti, la goma karaya, la goma tragacanto, la goma de algarrobo, el arabinogalactano, la pectina, la amilopectina, la gelatina, los coloides hidrófilos tales como la goma de carboximetilcelulosa o la goma de alginato reticulada con un poliol tal como el propilenglicol y similares, también forman hidrogeles al entrar en contacto con un entorno acuoso.

Los geles o hidrogeles sintéticos pueden ser bioestables o biodegradables. Entre los ejemplos de materiales poliméricos hidrófilos bioestables se encuentran el poli(metacrilato de hidroxialquilo), los poli(complejos electrolíticos), el poli(acetato de vinilo) reticulado con enlaces hidrolizables o degradables de otro modo y las N-vinil lactamas hinchables en agua. Otros hidrogeles incluyen hidrogeles hidrófilos conocidos como CARBOPOL[®], un polímero carboxiácido (las resinas Carbomer son polímeros de alto peso molecular, reticulados con alilpentaeritritol, basados en ácido acrílico, modificados con acrilatos de alquilo C10-C30), poliacrilamidas, ácido poliacrílico, copolímeros de injerto de almidón, polímero de acrilato, poliglucano reticulado con éster. Dichos hidrogeles se describen, por ejemplo, en la patente de EE. UU. n.º 3,640,741 de Etes, la patente de EE. UU. n.º 3,865,108 de Hartop, la patente de EE. UU. n.º 3,992,562 de Denzinger *et al.*, la patente de EE. UU. n.º 4,002,173 de Manning *et al.*, la patente de EE. UU. n.º 4,014,335 de Arnold y la patente de EE. UU. n.º 4,207,893 de Michaels.

Las matrices reticuladas pueden fabricarse a partir de precursores. Los precursores están reticulados entre sí. Los reticulaciones se pueden formar mediante enlaces covalentes o enlaces físicos. Algunos ejemplos de enlaces físicos son los enlaces iónicos, la asociación hidrofóbica de segmentos de moléculas precursoras y la cristalización de segmentos de moléculas precursoras. Los precursores pueden ser activados para que reaccionen y formen un hidrogel reticulado. Los precursores pueden ser polimerizables e incluyen reticulantes que a menudo, pero no siempre, son precursores polimerizables. Los precursores polimerizables son, por lo tanto, precursores que tienen grupos funcionales que reaccionan entre sí para formar matrices y/o polímeros hechos de unidades repetitivas. Los precursores pueden ser polímeros.

Algunos precursores reaccionan por lo tanto mediante polimerización por crecimiento de cadena, también denominada polimerización por adición, e implican la unión de monómeros que incorporan enlaces químicos dobles o triples. Estos monómeros insaturados tienen enlaces internos adicionales que pueden romperse y unirse con otros monómeros para formar la cadena repetitiva. Los monómeros son moléculas polimerizables con al menos un grupo que reacciona con otros grupos para formar un polímero. Un macromonómero (o macrómero) es un polímero u oligómero que tiene al menos un grupo reactivo, a menudo en el extremo, que le permite actuar como un monómero; cada molécula de macromonómero se une al polímero mediante la reacción del grupo reactivo. Por lo tanto, los macromonómeros con dos o más monómeros u otros grupos funcionales tienden a formar reticulaciones covalentes. La polimerización por adición está involucrada en la fabricación, por ejemplo, de polipropileno o cloruro de polivinilo. Un tipo de polimerización por adición es la polimerización viva.

Por lo tanto, algunos precursores reaccionan mediante polimerización por condensación que ocurre cuando los monómeros se unen entre sí a través de reacciones de condensación. Por lo general, estas reacciones se pueden lograr mediante la reacción de moléculas que incorporan grupos funcionales de alcohol, amina o ácido carboxílico (u otro derivado carboxílico). Cuando una amina reacciona con un ácido carboxílico, se forma un enlace amida o peptídico, con la liberación de agua. Algunas reacciones de condensación siguen una sustitución nucleófila de acilo, por ejemplo, como en la patente de EE. UU. n.º 6,958,212. Algunos precursores reaccionan mediante un mecanismo de crecimiento en cadena. Los polímeros de crecimiento en cadena se definen como polímeros formados por la reacción de monómeros o macromonómeros con un centro reactivo. Un centro reactivo es una ubicación particular dentro de un compuesto químico que es el iniciador de una reacción en la que participa el compuesto químico. En la química de polímeros de crecimiento en cadena, este es también el punto de propagación de una cadena en crecimiento. El centro reactivo es comúnmente de naturaleza radical, aniónica o catiónica, pero también puede adoptar otras formas. Los sistemas de crecimiento en cadena incluyen la polimerización por radicales libres, que implica un proceso de iniciación, propagación y terminación. La iniciación es la creación de radicales libres necesarios para la propagación, como los creados a partir de iniciadores radicales, por ejemplo, moléculas de peróxido orgánico. La terminación ocurre cuando un radical reacciona de una manera que impide una mayor propagación. El procedimiento más común de terminación es mediante acoplamiento, en el que dos especies radicales reaccionan entre sí y forman una única molécula. Algunos precursores reaccionan mediante un mecanismo de crecimiento escalonado y son polímeros formados por la reacción escalonada entre grupos funcionales de monómeros. La mayoría de los polímeros de crecimiento escalonado también se clasifican como polímeros de condensación, pero no todos los polímeros de crecimiento escalonado liberan condensados. Los monómeros pueden ser polímeros o moléculas pequeñas. Un polímero es una molécula de alto peso molecular formada mediante la combinación de muchas moléculas más pequeñas (monómeros) en un patrón regular. Los oligómeros son polímeros que tienen menos de 20 unidades monoméricas repetidas. Un precursor de molécula pequeña generalmente se refiere a un precursor que tiene menos de aproximadamente 2000 Daltons. Por lo tanto, los precursores pueden ser moléculas pequeñas, tales como ácido acrílico o vinil caprolactama, moléculas más grandes que contienen grupos polimerizables, tales como polietilenglicol con protección de acrilato (PEG-diacrilato), u otros polímeros que contienen grupos etilénicamente insaturados. Por ejemplo, véanse las patentes de EE. UU. n.º 4,938,763, 5,100,992 4,826,945, 4,741,872, 5,160,745, 5,410,016, 8,409,606, 8,383,161, 9,125,807, 9,205,150, la publicación US n.º 2017/0143636.

En algunas realizaciones, cada precursor es multifuncional, lo que significa que comprende dos o más grupos funcionales electrófilos o nucleófilos, de modo que un grupo funcional nucleófilo en un precursor puede reaccionar con un grupo funcional electrófilo en otro precursor para formar un enlace covalente. Al menos uno de los precursores comprende más de dos grupos funcionales, de modo que, como resultado de reacciones electrófilas-nucleófilas, los precursores se combinan para formar productos poliméricos reticulados.

Los precursores pueden tener porciones biológicamente inertes e hidrófilas, por ejemplo, un núcleo. En el caso de un polímero ramificado, un núcleo se refiere a una porción contigua de una molécula unida a brazos que se extienden desde el núcleo, y los brazos tienen un grupo funcional, que a menudo se encuentra en el extremo de la ramificación. Una molécula hidrófila, por ejemplo, un precursor o una porción precursora, tiene una solubilidad de al menos 1 g/100 mL en una solución acuosa. Una porción hidrófila puede ser, por ejemplo, un poliéter, por ejemplo, óxidos de polialquilenos tales como polietilenglicol (PEG), óxido de polietileno (PEO), óxido de polietileno-co-óxido de polipropileno (PPO), copolímeros de bloque o aleatorios de óxido de co-polietileno y alcohol polivinílico (PVA), poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli(aminoácidos), dextrano o una proteína. Los precursores pueden tener una porción de polialquilenglicol y pueden estar basados en polietilenglicol, con al menos aproximadamente el 80 % o 90 % en peso del polímero que comprende repeticiones de óxido de polietileno. Los poliéteres y más particularmente los poli(oxialquilenos) o poli(etilenglicol) o polietilenglicol son generalmente hidrófilos. Como es habitual en estas técnicas, el término PEG se utiliza para referirse a PEO con o sin grupos terminales hidroxilo.

Un precursor también puede ser una macromolécula (o macrómero), que es una molécula que tiene un peso molecular en el intervalo de mil a muchos millones. Sin embargo, el hidrogel u organogel puede fabricarse con al menos uno de los precursores como una molécula pequeña de aproximadamente 1000 Da o menos (alternativamente: 2000 Da o menos). La macromolécula, cuando reacciona en combinación con una molécula pequeña (de aproximadamente 1000 Da o menos / 2000 Da o menos), por ejemplo, tiene al menos cinco a cincuenta veces mayor peso molecular que la molécula pequeña y es preferentemente menor que aproximadamente 60.000 Da; los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de los intervalos establecidos explícitamente. Los ejemplos de un peso molecular de precursor son, por ejemplo, 500 a 500.000 Da. Los artesanos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: 500, 1000, 10.000, 20.000, 50.000, 80.000, 100.000, 200.000, 300.000, 400.000, 500.000 Da.

Se pueden utilizar precursores sintéticos. Sintético se refiere a una molécula que no se encuentra en la naturaleza o que normalmente no se encuentra en un ser humano. Algunos precursores sintéticos están libres de aminoácidos o de secuencias de aminoácidos que se encuentran en la naturaleza. Algunos precursores sintéticos son polipéptidos que no se encuentran en la naturaleza o que normalmente no se encuentran en un cuerpo humano, por ejemplo, di-, tri- o tetra-lisina. Algunas moléculas sintéticas tienen residuos de aminoácidos, pero solo uno, dos o tres de ellos están contiguos, y los aminoácidos o sus agregaciones están separados por polímeros o grupos no naturales. Por lo tanto, los polisacáridos o sus derivados no son sintéticos. Los polímeros sintéticos incluyen polímeros fabricados a partir de, o que comprenden, por ejemplo: óxido de poli(etileno), polietilenglicol, polivinilpirrolidona, poliacrilato, polimetilacrilato, óxido de polialquilenos, ácido metacrílico u otros monómeros vinílicos, un cloruro de acilo, por ejemplo cloruro de metacrililo, un isocianato, o metacrilato de 2-isocianatoetilo, un metacrilato de poli(etilenglicol) electrófilo (PEGMA). La polimerización por radicales libres se lleva a cabo, en general, con un grupo vinílico o alílico, incluyendo acrilatos y metacrilatos. Un monómero puede polimerizarse por sí mismo o con comonómeros que también experimentan polimerización por radicales libres. Los ejemplos de comonómeros incluyen uno o más de: acrilatos, metacrilatos, metacrilato de 2-hidroxietilo, metacrilato de hidroxipropilo, metacrilato de n-butilo, metacrilato de terc-butilo, metacrilato de n-hexilo, metacrilato de 2-metoxietilo, metacrilato de poli(hexanida), metacrilato de óxido de polietileno de poli(hexanida) o metacrilato de poli(hexanida) derivado de alquilo, macrómero de óxido de polietileno derivado de heparina, monómero de ácido vinilsulfónico, monómeros que comprenden poli(etilenglicol), monómeros de N-vinilpirrolidona, metacrilato de 4-benzoilfenilo, carbonato de metilo de alilo, alcohol alílico, isocianato de alilo, metacrililoiloxietilfosforilcolina, monometacrilato de glicerol y polímeros que contienen grupos fosfato y amina. Varios polímeros incluyen, por ejemplo: polímeros hidrófilos, polímeros hidrófobos, óxidos de polialquilenos, óxido de polietileno, poliéteres y polivinilpirrolidona.

Como alternativa, las proteínas naturales o los polisacáridos pueden adaptarse para elaborar matrices reticuladas para su uso como geles, hidrogeles u otros materiales para su uso con estos procedimientos, por ejemplo, colágenos, fibrinas/fibrinógenos, albúminas, alginatos, ácido hialurónico y heparinas. Estas moléculas naturales pueden incluir, además, derivatización química, por ejemplo, decoraciones de polímeros sintéticos. La molécula natural puede reticularse a través de sus nucleófilos nativos o después de que se derivatice con grupos funcionales, por ejemplo, como en las patentes de EE. UU. n.º 5,304,595, 5,324,775, 6,371,975 y 7,129,210. Natural se refiere a una molécula que se encuentra en la naturaleza. Los polímeros naturales, por ejemplo, proteínas o glicosaminoglicanos, por ejemplo, colágeno, fibrinógeno, albúmina y fibrina, pueden reticularse utilizando especies precursoras reactivas con grupos funcionales electrófilos. Los polímeros naturales que se encuentran normalmente en el cuerpo son degradados proteolíticamente por proteasas presentes en el cuerpo. Dichos polímeros pueden reaccionar a través de grupos funcionales tales como aminas, tioles o carboxilos en sus aminoácidos o derivatizarse para tener grupos funcionales activables. Si bien los polímeros naturales pueden usarse en hidrogeles, su tiempo de gelificación y sus propiedades mecánicas finales deben controlarse mediante la introducción apropiada de grupos funcionales adicionales y la selección de condiciones de reacción adecuadas, por ejemplo, pH.

Los precursores pueden fabricarse con una porción hidrófoba siempre que el hidrogel resultante retenga la cantidad necesaria de agua, por ejemplo, al menos aproximadamente el 20 %. En algunos casos, el precursor es, no obstante, soluble en agua porque también tiene una porción hidrófila. En otros casos, el precursor se dispersa en el agua (una suspensión) pero, no obstante, es capaz de reaccionar para formar un material reticulado. Algunas porciones

hidrófobas pueden incluir una pluralidad de alquilos, polipropilenos, cadenas de alquilo u otros grupos. Algunos precursores con porciones hidrófobas se venden bajo los nombres comerciales PLURONIC F68, JEFF AMINE o TECTRONIC. Una molécula hidrófoba o una porción hidrófoba de un copolímero o similar es una que es suficientemente hidrófoba para hacer que la molécula (por ejemplo, polímero o copolímero) se agregue para formar micelas o microfases que involucran los dominios hidrófobos en una fase continua acuosa o una que, cuando se prueba por sí sola, es suficientemente hidrófoba para precipitarse o de otro modo cambiar de fase mientras está dentro de una solución acuosa de agua a un pH de aproximadamente 7 a aproximadamente 7,5 a temperaturas de aproximadamente 30 a aproximadamente 50 °C.

Los precursores pueden tener, por ejemplo, de 2 a 100 brazos, cada uno de los cuales tiene un extremo, teniendo en cuenta que algunos precursores pueden ser dendrímeros u otros materiales altamente ramificados. Un brazo en un precursor de hidrogel se refiere a una cadena lineal de grupos químicos que conectan un grupo funcional reticulable a un núcleo de polímero. Algunas realizaciones son precursores con entre 3 y 300 brazos; los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de los intervalos establecidos explícitamente, por ejemplo, 4, 6, 8, 10, 12, 4 a 16, 8 a 100, 6, 8, 10, 12 o al menos 6 brazos.

Por lo tanto, las matrices reticuladas se pueden hacer, por ejemplo, a partir de un precursor de múltiples brazos con un primer conjunto de grupos funcionales y un precursor de bajo peso molecular que tiene un segundo conjunto de grupos funcionales. Por ejemplo, un precursor de seis u ocho brazos puede tener brazos hidrófilos, por ejemplo, polietilenglicol, con terminación en aminas primarias, con un peso molecular de los brazos de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 40.000; los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de los límites establecidos explícitamente. Estos precursores se pueden mezclar con precursores relativamente más pequeños, por ejemplo, moléculas con un peso molecular de entre aproximadamente 100 y aproximadamente 5000, o no más de aproximadamente 800, 1000, 2000 o 5000 que tengan al menos aproximadamente tres grupos funcionales, o, por ejemplo, entre aproximadamente 3 y aproximadamente 30 grupos funcionales. Los expertos apreciarán que se contemplan todos los intervalos y valores entre estos valores articulados explícitamente, por ejemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 20, 25, 30.

Se pueden utilizar precursores que no sean dendrímeros. Las moléculas dendríticas son polímeros simétricos radialmente altamente ramificados en los que los átomos están dispuestos en muchos brazos y subbrazos que irradian desde un núcleo central. Los dendrímeros se caracterizan por su grado de perfección estructural, según se basa en la evaluación tanto de la simetría como de la polidispersidad, y requieren procesos químicos particulares para sintetizarlos. En consecuencia, un experto puede distinguir fácilmente los precursores de dendrímeros de los precursores que no son dendrímeros. Los dendrímeros tienen una forma que depende habitualmente de la solubilidad de sus polímeros componentes en un entorno determinado, y pueden cambiar sustancialmente de acuerdo con el disolvente o los solutos que los rodean, por ejemplo, cambios en la temperatura, el pH o el contenido de iones.

Los precursores pueden ser dendrímeros, por ejemplo, como en las publicaciones de EE. UU. n.º 2004/0086479 y 2004/0131582 y las publicaciones PCT n.º WO07005249, WO07001926 y WO06031358, o sus contrapartes estadounidenses; los dendrímeros también pueden ser útiles como precursores multifuncionales, por ejemplo, como en las publicaciones de EE. UU. n.º 2004/0131582 y 2004/0086479 y las publicaciones PCT números WO06031388 y WO06031388. Los dendrímeros están altamente ordenados, poseen altas relaciones de área superficial a volumen y exhiben numerosos grupos terminales para una funcionalización potencial. Las realizaciones incluyen precursores multifuncionales que no son dendrímeros.

Algunas realizaciones incluyen un precursor que consiste esencialmente en una secuencia de oligopéptidos de no más de cinco residuos, por ejemplo, aminoácidos que comprenden al menos una cadena lateral de amina, tiol, carboxilo o hidroxilo. Un residuo es un aminoácido, ya sea que se presente en la naturaleza o que se derive del mismo. La estructura principal de dicho oligopéptido puede ser natural o sintética. En algunas realizaciones, los péptidos de dos o más aminoácidos se combinan con una estructura principal sintética para formar un precursor; ciertas realizaciones de dichos precursores tienen un peso molecular en el intervalo de aproximadamente 100 a aproximadamente 10.000 o de aproximadamente 300 a aproximadamente 500. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre estos límites explícitamente articulados.

Los precursores pueden prepararse para que no contengan secuencias de aminoácidos que puedan escindirse mediante enzimas presentes en el sitio de introducción, incluidas secuencias que puedan unirse mediante metaloproteinasas y/o colagenasas. Además, los precursores pueden prepararse para que no contengan ningún aminoácido o secuencias de aminoácidos de más de aproximadamente 50, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácido. Los precursores pueden no ser proteínas, lo que significa que no son proteínas de origen natural y no se pueden obtener escindiendo una proteína de origen natural ni añadiendo materiales sintéticos a una proteína. Los precursores pueden no ser colágeno, no ser fibrina, no ser fibrinógeno y no ser albúmina, lo que significa que no son una de estas proteínas ni son derivados químicos de una de estas proteínas. El uso de precursores no proteicos y el uso limitado de secuencias de aminoácidos puede ser útil para evitar reacciones inmunitarias, evitar el reconocimiento celular no deseado y evitar los riesgos asociados con el uso de proteínas derivadas de fuentes naturales. Los precursores también pueden ser no sacáridos (libres de sacáridos) o esencialmente no sacáridos (libres de más de aproximadamente el 5 % de sacáridos en p/p del peso molecular del precursor). Por lo tanto, un precursor puede, por

ejemplo, excluir ácido hialurónico, heparina o gellan. Los precursores también pueden ser tanto no proteicos como no sacáridos.

Se pueden utilizar péptidos como precursores. En general, se prefieren los péptidos con menos de aproximadamente 10 residuos, aunque se pueden utilizar secuencias más grandes (por ejemplo, proteínas). Los expertos apreciarán inmediatamente que se incluye cada intervalo y valor dentro de estos límites explícitos, por ejemplo, 1-10, 2-9, 3-10, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7. Algunos aminoácidos tienen grupos nucleófilos (por ejemplo, aminas primarias o tioles) o grupos que se pueden derivatizar según sea necesario para incorporar grupos nucleófilos o grupos electrófilos (por ejemplo, carboxilos o hidroxilos). Los polímeros de poliaminoácidos generados sintéticamente normalmente se consideran sintéticos si no se encuentran en la naturaleza y están diseñados para no ser idénticos a las biomoléculas de origen natural.

Algunas matrices se fabrican con un precursor que contiene polietilenglicol. El polietilenglicol (PEG, también denominado óxido de polietileno) se refiere a un polímero con un grupo de repetición $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$, siendo n al menos 3. Un precursor polimérico que tiene un polietilenglicol tiene por lo tanto al menos tres de estos grupos de repetición conectados entre sí en una serie lineal. El contenido de polietilenglicol de un polímero o brazo se calcula sumando todos los grupos de polietilenglicol en el polímero o brazo, incluso si están interrumpidos por otros grupos. Por lo tanto, un brazo que tiene al menos 1000 MW de polietilenglicol tiene suficientes grupos $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ para totalizar al menos 1000 MW. Como es la terminología habitual en estas técnicas, un polímero de PEG no se refiere necesariamente a una molécula que termina en un grupo hidroxilo. Los pesos moleculares se abrevian en miles utilizando el símbolo k , por ejemplo, donde 15K significa un peso molecular de 15 000, es decir, 15 000 Daltons. Los componentes poliméricos utilizados en este documento son efectivamente monodispersos a menos que se indique lo contrario; sin embargo, los expertos pueden adaptar fácilmente esta invención para utilizar polímeros en términos de un peso promedio (M_w) o promedio numérico según sea conveniente; en caso de conflicto, se deben utilizar pesos moleculares promedio numéricos (M_n). NH_2 se refiere a una terminación de amina. SG se refiere a glutarato de succinimidilo. SS se refiere a succinato de succinimidilo. SAP se refiere a adipato de succinimidilo. SAZ se refiere a azelato de succinimidilo. SS, SG, SAP y SAZ son ésteres de succinimidilo que tienen un grupo éster que se degrada por hidrólisis en agua. Degradable hidrolíticamente o degradable en agua se refiere, por tanto, a un material que se degradaría espontáneamente *in vitro* en un exceso de agua sin ninguna enzima o célula presente para mediar la degradación. Un tiempo de degradación se refiere a la desaparición efectiva del material a juzgar a simple vista. La trilisina (también abreviada LLL) es un tripéptido sintético. Los precursores y/o matrices reticuladas, hidrogeles, organogeles, geles, xerogeles, así como las composiciones que los comprenden, pueden proporcionarse en una forma que sea farmacéuticamente aceptable, lo que significa que está altamente purificada y libre de contaminantes, por ejemplo, pirógenos.

Estructuras de materiales

La estructura de la matriz reticulada de un gel o hidrogel y su composición de material constituyente, por ejemplo, de los precursores del hidrogel, determinan sus propiedades. Los factores precursores incluyen propiedades tales como biocompatibilidad, solubilidad en agua, hidrofiliidad, peso molecular, longitud del brazo, número de brazos, grupos funcionales, distancia entre reticulaciones, degradabilidad y similares. La elección de las condiciones de reacción también afecta a la estructura y las propiedades de la matriz reticulada, incluidas las opciones de disolventes, esquemas de reacción, concentraciones de reactivos, contenido de sólidos y similares. Puede haber una variedad de formas de lograr ciertas propiedades o combinaciones de propiedades. Por otro lado, algunas propiedades están en tensión entre sí, por ejemplo, la fragilidad puede aumentar a medida que disminuye la distancia entre reticulaciones o aumenta el contenido de sólidos. La resistencia puede aumentarse incrementando el número de reticulaciones, pero con ello se puede reducir la hinchazón. Los artesanos apreciarán que los mismos materiales pueden utilizarse para fabricar matrices con una gran variedad de estructuras que tendrán propiedades mecánicas y rendimiento muy distintos, de modo que no se debe asumir que se alcance una propiedad particular basándose únicamente en los tipos generales de precursores que intervienen.

El tamaño de la malla se refiere al espaciamiento entre las hebras moleculares del hidrogel (y la matriz reticulada), expresado a menudo como el peso molecular entre reticulaciones (M_c). El tamaño de la malla afecta a varias propiedades del hidrogel, incluida la velocidad de difusión de las moléculas. El tamaño de la malla es mayor a medida que aumenta el espacio entre las hebras. La densidad de reticulación se puede controlar mediante la elección del peso molecular total del precursor o precursores utilizados como reticulantes y otro precursor o precursores y el número de grupos funcionales disponibles por molécula precursora. Un peso molecular más bajo entre reticulaciones, tal como 200, dará una densidad de reticulación mucho más alta en comparación con un peso molecular más alto entre reticulaciones, tal como 500.000; los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan y admiten todos los intervalos y valores dentro de este intervalo, por ejemplo, de 200 a 250.000, de 500 a 400.000, de 2.000 a 100.000, de 10.000 a 80.000, de 20.000 a 200.000, etc. La densidad de reticulación también se puede controlar mediante el porcentaje total de sólidos del reticulante y las soluciones poliméricas funcionales. Otro procedimiento más para controlar la densidad de reticulación es ajustar la estequiometría de los grupos funcionales nucleófilos a los grupos funcionales electrófilos. Una relación de uno a uno conduce a la densidad de reticulación más alta. Los precursores con distancias más largas entre los sitios reticulables forman geles que son generalmente más blandos, más flexibles y más elásticos. Por lo tanto, una mayor longitud de un segmento soluble en agua, tal como un polietilenglicol, tiende

a mejorar la elasticidad para producir propiedades físicas deseables. Por lo tanto, ciertas realizaciones están dirigidas a precursores con segmentos solubles en agua que tienen pesos moleculares en el intervalo de 1.000 a 200.000; los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de los intervalos establecidos explícitamente, por ejemplo, de 5.000 a 35.000. El contenido de sólidos del hidrogel puede afectar sus propiedades mecánicas y biocompatibilidad y refleja un equilibrio entre requisitos contrapuestos. Un contenido de sólidos relativamente bajo es generalmente útil, por ejemplo, entre aproximadamente 2,5 % y aproximadamente 20 %, incluidos todos los intervalos y valores intermedios, por ejemplo, de aproximadamente 2,5 % a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 15 %, o menos de aproximadamente el 15 %.

Grupos funcionales

Los precursores para la reticulación covalente tienen grupos funcionales que reaccionan entre sí para formar el material a través de enlaces covalentes, ya sea fuera de un paciente o *in situ*. Los grupos funcionales generalmente son polimerizables, una categoría amplia que abarca la polimerización por radicales libres, adición y condensación, y también grupos para reacciones electrófilas-nucleófilas. En la sección de precursores de este documento se analizan diversos aspectos de las reacciones de polimerización.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, los precursores tienen un grupo polimerizable que se activa mediante sistemas de fotoiniciación o redox como los que se utilizan en las técnicas de polimerización, o grupos funcionales electrófilos, por ejemplo: carbodiimidazol, cloruro de sulfonilo, clorocarbonatos, éster de n-hidroxisuccinimidilo, éster de succinimidilo o ésteres de sulfasuccinimidilo, o como en las patentes de EE. UU. n.º 5,410,016 o 6,149,931. Los grupos funcionales nucleófilos pueden ser, por ejemplo, amina, hidroxilo, carboxilo y tiol. Otra clase de electrófilos son los acilos, por ejemplo, como en la patente de EE. UU. n.º 6,958,212, que describe, entre otras cosas, esquemas de adición de Michael para hacer reaccionar polímeros.

Ciertos grupos funcionales, tales como alcoholes o ácidos carboxílicos, normalmente no reaccionan con otros grupos funcionales, tales como aminas, en condiciones fisiológicas (por ejemplo, pH 7,2-11,0, 37 °C). Sin embargo, dichos grupos funcionales pueden volverse más reactivos utilizando un grupo activador tal como N-hidroxisuccinimida. Ciertos grupos activadores incluyen carbonildiimidazol, cloruro de sulfonilo, haluros de arilo, ésteres de sulfosuccinimidilo, éster de N-hidroxisuccinimidilo, éster de succinimidilo, epóxido, aldehído, maleimidas, imidoésteres y similares. Los ésteres de N-hidroxisuccinimida o grupos N-hidroxisulfosuccinimida (NHS) son grupos útiles para la reticulación de proteínas o polímeros que contienen amina, por ejemplo, polietilenglicol con terminación en amino. Una ventaja de una reacción de NHS-amina es que la cinética de la reacción es favorable, pero la velocidad de gelificación se puede ajustar a través del pH o la concentración. La reacción de reticulación de NHS-amina conduce a la formación de N-hidroxisuccinimida como producto secundario. Las formas sulfonadas o etoxiladas de N-hidroxisuccinimida tienen una solubilidad relativamente mayor en agua y, por lo tanto, su eliminación rápida del cuerpo. Una reacción de reticulación de NHS-amina se puede llevar a cabo en soluciones acuosas y en presencia de tampones, por ejemplo, tampón de fosfato (pH 5,0-7,5), tampón de trietanolamina (pH 7,5-9,0), o tampón de borato (pH 9,0-12), o tampón de bicarbonato de sodio (pH 9,0-10,0). Las soluciones acuosas de reticulantes basados en NHS y polímeros funcionales se preparan preferentemente justo antes de la reacción de reticulación debido a la reacción de los grupos NHS con agua. La velocidad de reacción de estos grupos se puede retrasar manteniendo estas soluciones a un pH más bajo (pH 4-7). También se pueden incluir tampones en los hidrogeles introducidos en un cuerpo.

En algunas realizaciones, cada precursor comprende solo grupos funcionales nucleófilos o solo grupos funcionales electrófilos, siempre que se utilicen precursores tanto nucleófilos como electrófilos en la reacción de reticulación. Por lo tanto, por ejemplo, si un reticulante tiene grupos funcionales nucleófilos tales como aminas, el polímero funcional puede tener grupos funcionales electrófilos tales como N-hidroxisuccinimidas. Por otro lado, si un reticulante tiene grupos funcionales electrófilos como sulfosuccinimidas, entonces el polímero funcional puede tener grupos funcionales nucleófilos tales como aminas o tioles. Por lo tanto, se pueden utilizar polímeros funcionales tales como proteínas, poli(alil amina) o poli(etilenglicol) di- o multifuncional con terminación amina.

Una realización tiene especies precursoras reactivas con 2 a 16 grupos funcionales nucleófilos cada una y especies precursoras reactivas con 2 a 16 grupos funcionales electrófilos cada una; los expertos en la materia apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de los intervalos explícitamente establecidos, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 grupos.

Los grupos funcionales pueden ser, por ejemplo, electrófilos que reaccionan con nucleófilos, grupos que reaccionan con nucleófilos específicos, por ejemplo, aminas primarias, grupos que forman enlaces amida con materiales en los fluidos biológicos, grupos que forman enlaces amida con carboxilos, grupos funcionales de ácido activado o una combinación de los mismos. Los grupos funcionales pueden ser, por ejemplo, un grupo funcional electrófilo fuerte, es decir, un grupo funcional electrófilo que forma efectivamente un enlace covalente con una amina primaria en solución acuosa a pH 9,0 a temperatura y presión ambiente y/o un grupo electrófilo que reacciona mediante una reacción de tipo Michael. El electrófilo fuerte puede ser de un tipo que no participa en una reacción de tipo Michael o de un tipo que participa en una reacción de tipo Michael.

Una reacción de tipo Michael se refiere a la reacción de adición 1, 4 de un nucleófilo en un sistema insaturado conjugado. El mecanismo de adición podría ser puramente polar o proceder a través de un estado o estados intermedios de modo similar a un radical; los ácidos de Lewis o las especies de enlaces de hidrógeno diseñadas apropiadamente pueden actuar como catalizadores. El término conjugación puede referirse tanto a la alternancia de enlaces múltiples carbono-carbono, carbono-heteroátomo o heteroátomo-heteroátomo con enlaces simples, o a la unión de un grupo funcional a una macromolécula, tal como un polímero sintético o una proteína. Las reacciones de tipo Michael se analizan en detalle en la patente de EE. UU. n.º 6,958,212.

Algunos ejemplos de electrófilos fuertes que no participan en una reacción de tipo Michael son: succinimidas, ésteres de succinimidilo o ésteres de NHS. Algunos ejemplos de electrófilos de tipo Michael son acrilatos, metacrilatos, metilmetacrilatos y otros grupos polimerizables insaturados.

Sistemas iniciadores

Algunos precursores reaccionan utilizando iniciadores. Un grupo iniciador es un grupo químico capaz de iniciar una reacción de polimerización por radicales libres. Por ejemplo, puede estar presente como un componente separado o como un grupo pendiente en un precursor. Los grupos iniciadores incluyen iniciadores térmicos, iniciadores fotoactivables y sistemas de oxidación-reducción (redox). Los iniciadores fotoactivables por luz visible y ultravioleta de onda larga incluyen, por ejemplo, grupos de etil eosina, grupos de 2,2-dimetoxi-2-fenil acetofenona, otros derivados de acetofenona, grupos de tioxantona, grupos de benzofenona y grupos de canforquinona. Los ejemplos de iniciadores térmicamente reactivos incluyen grupos de 4,4' azobis (ácido 4-cianopentanoico) y análogos de grupos de peróxido de benzoilo. Se pueden utilizar varios iniciadores de radicales libres de baja temperatura disponibles comercialmente, tales como V-044, disponible en Wako Chemicals USA, Inc., Richmond, Va., para iniciar reacciones de reticulación de radicales libres a temperaturas corporales para formar recubrimientos de hidrogel con los monómeros antes mencionados.

Los iones metálicos pueden utilizarse como oxidantes o reductores en sistemas iniciadores de redox. Por ejemplo, los iones ferrosos pueden utilizarse en combinación con un peróxido o hidroperóxido para iniciar la polimerización, o como partes de un sistema de polimerización. En este caso, los iones ferrosos servirían como reductores. Alternativamente, los iones metálicos pueden servir como oxidantes. Por ejemplo, el ion cérico (estado de valencia 4+ del cerio) interactúa con varios grupos orgánicos, incluidos los ácidos carboxílicos y los uretanos, para quitarle un electrón al ion metálico y dejar un radical iniciador en el grupo orgánico. En un sistema de este tipo, el ion metálico actúa como oxidante. Los iones metálicos potencialmente adecuados para cualquiera de las funciones son cualquiera de los iones metálicos de transición, lantánidos y actínidos, que tienen al menos dos estados de oxidación fácilmente accesibles. Los iones metálicos particularmente útiles tienen al menos dos estados separados por una sola diferencia de carga. De estos, los más utilizados son férrico/ferroso; cúprico/cuproso; cérico/ceroso; cobáltico/cobaltoso; vanadato V vs. IV; permanganato; y mangánico/manganeso. Se pueden utilizar compuestos que contienen peróxígeno, tales como peróxidos e hidroperóxidos, incluyendo peróxido de hidrógeno, hidroperóxido de t-butilo, peróxido de t-butilo, peróxido de benzoilo, peróxido de cumilo.

Un ejemplo de un sistema iniciador es la combinación de un compuesto de peróxígeno en una solución y un ion reactivo, tal como un metal de transición, en otra. En este caso, no se necesitan iniciadores externos de polimerización y la polimerización se produce espontáneamente y sin aplicación de energía externa o uso de una fuente de energía externa cuando dos grupos funcionales reactivos complementarios que contienen fracciones interactúan en el sitio de aplicación.

Agentes de visualización

Puede estar presente un agente de visualización en la matriz reticulada y el hidrogel; refleja o emite luz a una longitud de onda detectable para el ojo humano, de modo que un usuario que aplique el hidrogel podría observar el objeto sin la ayuda de una máquina cuando contiene una cantidad eficaz del agente. Los productos químicos que requieren la ayuda de una máquina para la obtención de imágenes se denominan en este documento agentes de obtención de imágenes, y los ejemplos incluyen: agentes de contraste radiopacos y agentes de contraste de ultrasonidos. Algunos agentes de visualización biocompatibles son FD&C AZUL #1, FD&C AZUL #2, y azul de metileno. Estos agentes están presentes preferentemente en la mezcla final de especies precursoras reactivas electrófilas-nucleófilas en una concentración de más de 0,05 mg/ml y preferentemente en un intervalo de concentración de al menos 0,1 a aproximadamente 12 mg/ml, y más preferentemente en el intervalo de 0,1 a 4,0 mg/ml, aunque potencialmente se pueden usar concentraciones mayores, hasta el límite de solubilidad del agente de visualización. Los agentes de visualización pueden estar unidos covalentemente a la red molecular del xerogel/hidrogel, preservando así la visualización después de la aplicación a un paciente hasta que el hidrogel se hidroliza hasta disolverse. Los agentes de visualización pueden seleccionarse de entre cualquiera de las diversas sustancias coloreadas no tóxicas adecuadas para su uso en dispositivos médicos implantables, tales como los colorantes FD&C AZUL 3 y 6, la eosina, el azul de metileno, el verde de indocianina o los colorantes que se encuentran normalmente en las suturas quirúrgicas sintéticas. Los agentes de obtención de imágenes reactivos, tales como la NHS-fluoresceína, pueden incorporarse a la red molecular del xerogel/hidrogel. La fluoresceína es habitualmente un agente de obtención de imágenes, pero puede visualizarse sin la ayuda de una máquina cuando está presente en una concentración suficiente. El nivel de

fluoresceína puede manipularse desde ninguno (esencialmente no visible) a una pequeña cantidad (visible con fluorescencia) a una cantidad mayor (visible como amarillo sin la ayuda de una máquina). El agente de visualización puede estar presente con especies precursoras reactivas, por ejemplo, un reticulante o una solución polimérica funcional. La sustancia coloreada preferente puede o no unirse químicamente al hidrogel.

Por ejemplo, una molécula fluorescente que se ilumina cuando se excita con una fuente de luz, tal como una lámpara de hendidura, es útil para que un investigador confirme la presencia de un depósito que contiene la molécula fluorescente. Por ejemplo, la fluoresceína se puede iluminar con una fuente de luz azul.

Biodegradación

Si se desea que una matriz reticulada biocompatible sea biodegradable, se pueden utilizar uno o más precursores que tengan enlaces biodegradables (o solo un enlace biodegradable, por ejemplo un éster) presentes entre los grupos funcionales. El enlace biodegradable también puede servir opcionalmente como el núcleo soluble en agua de uno o más de los precursores utilizados para fabricar la matriz. Para cada enfoque, se pueden elegir enlaces biodegradables de modo que el polímero reticulado biocompatible biodegradable resultante se degrade o se absorba en un período de tiempo deseado.

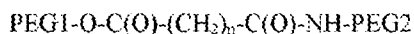
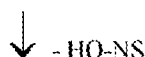
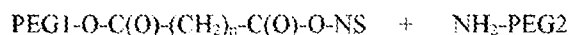
Se puede formar una matriz reticulada de modo que, tras la hidratación en una solución fisiológica, se forme un gel o hidrogel que sea degradable en agua, lo que se puede medir por la pérdida de resistencia mecánica del gel o hidrogel y su disipación final *in vitro* en un exceso de agua mediante la degradación hidrolítica de los grupos degradables en agua. Esta prueba predice la disolución impulsada hidrolíticamente *in vivo*, un proceso que contrasta con la degradación impulsada por células o proteasas. Sin embargo, es significativo que los polianhídridos u otros materiales degradables utilizados convencionalmente que se degradan en componentes ácidos tienden a causar inflamación en los tejidos. Sin embargo, los hidrogeles pueden excluir dichos materiales y pueden estar libres de polianhídridos, enlaces anhídrido o precursores que se degradan en ácido o diácidos. Los hidrogeles, cuando se reticulan covalentemente, no se disuelven en agua. Sin embargo, a medida que se degradan, la red molecular se desintegra, liberando subunidades solubles. Finalmente, la red molecular se desintegra y el hidrogel ya no es visible, momento en el que se dice que el hidrogel se ha disuelto. El término enlaces hidrolizables se refiere a enlaces capaces de escindirse de una molécula de agua en condiciones fisiológicas.

Los tiempos de administración de hasta aproximadamente 2 años a una dosis terapéuticamente eficaz en un ojo humano son prácticos para un único depósito de hidrogel; se contemplan tiempos desde 10 días hasta 2 años. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: por ejemplo, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 150 días, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 meses. Una realización para tiempos prolongados es elegir enlaces biodegradables para una matriz de un depósito que se degrade lentamente. La degradación de la matriz de hidrogel está controlada por varios factores: 1) La hidrofobicidad de la longitud de la cadena de carbono próxima al éster, que mide la velocidad de hidrólisis en presencia de agua. Una cadena de carbono más corta (tal como un adipato de 4 cadenas de hidrocarburos) es más hidrófila y provocará la hidrólisis del éster a una velocidad más rápida en comparación con una cadena de carbono más larga e hidrófoba (por ejemplo, una cadena de 7 carbonos); 2) Para una concentración dada de precursor, la longitud del brazo de las cadenas de precursor dentro de la red de hidrogel regula la cantidad de enlaces biodegradables. Más enlaces promueven una mayor persistencia del hidrogel; 3) Una mayor concentración de precursor aumenta la cantidad de enlaces dentro de la red de hidrogel y, en consecuencia, su persistencia. Por lo tanto, se puede hacer que la matriz de un depósito persista durante un período prolongado seleccionando más grupos hidrófobos próximos al éster en combinación con PEG multibrazo de longitud de brazo corta preparados a altas concentraciones de PEG.

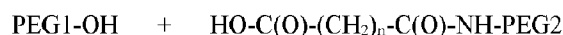
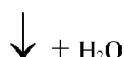
Por ejemplo, se pueden utilizar grupos electrófilos tales como SG (glutarato de succinimidilo), SS (succinato de succinimidilo), SC (carbonato de succinimidilo), SAP (adipato de succinimidilo) o SAZ (azelato de succinimidilo) que tienen enlaces estéricos que son hidrolíticamente lábiles. También se pueden utilizar enlaces hidrófobos lineales más largos, tales como enlaces pimelato, suberato, azelato o sebacato, siendo estos enlaces menos degradables que los enlaces succinato, glutarato o adipato. También se pueden utilizar enlaces hidrófobos ramificados, cíclicos u otros. Los PEG, polisacáridos y otros precursores pueden prepararse con estos grupos. La degradación del hidrogel reticulado puede realizarse mediante la hidrólisis impulsada por agua del segmento biodegradable cuando se utilizan materiales degradables en agua. También pueden incluirse segmentos de polímero que incluyen enlaces éster para proporcionar una tasa de degradación deseada, con grupos que se agregan o se sustraen cerca de los ésteres para aumentar o disminuir la tasa de degradación. Por lo tanto, es posible construir un hidrogel con un perfil de degradación deseado, desde unos pocos días hasta muchos meses, utilizando un segmento degradable. Si se utiliza poliglicólido como segmento biodegradable, por ejemplo, se puede hacer que un polímero reticulado se degrade en aproximadamente 1 a aproximadamente 30 días, dependiendo de la densidad de reticulación de la red. De manera similar, se puede hacer que una red reticulada basada en policaprolactona se degrade en aproximadamente 1 a aproximadamente 8 meses. El tiempo de degradación varía generalmente según el tipo de segmento degradable utilizado, en el siguiente orden: poliglicólido < polilactida < carbonato de politrimetileno < policaprolactona. Algunas realizaciones incluyen precursores

que están libres de grupos éster adyacentes y/o no tienen más de un grupo éster por brazo en uno o más de los precursores: el control del número y la posición de los ésteres puede ayudar a la degradación uniforme del hidrogel.

- 5 La red molecular, también denominada matriz, formada por un polímero hidrófilo, por ejemplo polietilenglicoles (PEG), se puede representar mediante el siguiente esquema de reacción de reticulación:



- 10 Donde PEG1 y PEG2 son polietilenglicoles de múltiples brazos con solo un brazo mostrado, pero la conectividad a la red es a través de los otros brazos en PEG1 y PEG2. El símbolo S es un grupo succinato cíclico unido al nitrógeno (N) para formar un grupo succinimida, NS. Tenga en cuenta que el PEG2 se puede sustituir por cualquier amina primaria multifuncional, por ejemplo, trilisina, que tiene cuatro grupos de amina primaria. La reticulación se produce cuando la amina primaria nucleófila suplanta al grupo saliente N-hidroxisuccinimida (HO-NS) para formar el enlace de reticulación amida. La longitud de los grupos metileno ((CH₂)_n) repetidos controlan la velocidad de hidrólisis del enlace éster adyacente cuando se expone al agua. La reacción de hidrólisis se representa en el siguiente esquema:
- 15



- 20 Aquí, la reticulación se corta mediante la adición de una molécula de agua en el éster para separar los PEG entre sí. Las moléculas de PEG en sí no se alteran, salvo por el desplazamiento de los grupos terminales de PEG1 a PEG2. Esta reacción de escisión de reticulaciones ocurre a lo largo de la red molecular, y finalmente produce las moléculas iniciales PEG1 y PEG2 sin cambios, excepto por el cambio de grupo final. Los productos de hidrólisis de estas reacciones no son tóxicos.

- 25 La longitud de la cadena de metileno ((CH₂)_n) controla la velocidad de hidrólisis del éster al controlar la hidrofobicidad del dominio conectado directamente al enlace éster. A medida que aumenta la hidrofobicidad con cadenas de metileno más largas, la velocidad de hidrólisis disminuye, debido al creciente impedimento de la accesibilidad del agua al éster. Por lo tanto, en la estructura PEG1-O-C(O)-(CH₂)_n-C(O)-NH-PEG2, la siguiente lista ejemplifica el efecto del alargamiento de las cadenas de metileno sobre la degradación.
- 30

Velocidad	Longitud de la cadena de metileno (n)	Nombre del enlace	Nombre del grupo terminal
1 (rápido)	2	succínico	SS
2	3	glutárico	SG
3	4	adípico	SAP
4 (lento)	7	azeleico	SAZ

- 35 Además, la velocidad de reticulación de estos enlaces sigue el mismo orden; en este caso, la aproximación de la amina primaria al éster NHS se ve obstaculizada por las cadenas de metileno más largas. En la nomenclatura estandarizada para los polímeros de ésteres precursores, las velocidades tanto de reticulación como de hidrólisis son las siguientes: PEG SS > PEG SG > PEG SAP > PEG SAZ. La siguiente tabla enumera algunos ejemplos de hidrogeles y sus tiempos de degradación.

Hidrogel	Tiempo aproximado hasta la desaparición
8a15K PEG SS + trilisina	5-7 días
4a 20K PEG SG + trilisina	6-8 semanas
4a20K PEG SAP + 8a20K PEG NH ₂	4 meses
4a20K PEG SAZ + 8a20K PEG NH ₂	8 meses

Los expertos pueden seguir las instrucciones descritas en el presente documento para extender estos tiempos y adaptarse a los plazos de administración de una semana a dos años, incluidos los tiempos para adaptarse a los factores de diseño de IRR deseados, como se describe en el presente documento.

Los agentes pueden estar en vehículos biodegradables, por ejemplo, micropartículas. Los vehículos biodegradables en los que puede estar presente el agente activo incluyen: vehículos de encapsulación, tales como micropartículas, microesferas, microperlas, microgránulos, donde el agente activo está encapsulado en un material degradable, por ejemplo, un polímero bioerosionable o biodegradable tal como polímeros y copolímeros de: poli(anhídrido), poli(hidroxiácidos), poli(lactonas), poli(carbonato de trimetileno), poli(ácido glicólico), poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico)-co-poli(ácido glicólico) (PLGA), poli(ortocarbonato), poli(caprolactona), redes de hidrogel biodegradables reticuladas como pegamento de fibrina o sellador de fibrina, moléculas de enjaulamiento y atrapamiento, como ciclodextrina, tamices moleculares y similares. Las microesferas hechas de polímeros y copolímeros de poli(lactonas) y poli(hidroxiácidos) son particularmente preferentes como vehículos de encapsulación biodegradables. La cantidad de agente y material degradable puede elegirse en función del uso particular previsto de la partícula y del agente, incluido el tiempo de degradación y la velocidad de liberación. El contenido de la partícula puede variar, por ejemplo, de 0,5 a aproximadamente 80 por ciento en peso o volumen. Los expertos que lean esta descripción comprenderán que la liberación del agente terapéutico de un depósito descrito en este documento puede modularse ajustando la formulación de las micropartículas para regular las velocidades de biodegradación de los materiales de micropartículas que encapsulan el agente.

Por ejemplo, en el contexto de las formulaciones de PLA y PLGA, esta modulación de la degradación puede producirse mediante el ajuste de: proporciones de copolímero láctido:glicólico; formas poliméricas amorfas (D,L-láctido) o cristalinas (L-láctido); pesos moleculares del polímero; químicas de grupos terminales de ésteres o ácidos; tamaño de micropartículas; y carga de agente dentro de las micropartículas. Además, estas micropartículas pueden combinarse cuando sea necesario para lograr velocidades de liberación del fármaco personalizadas. La figura 7 muestra un intervalo de liberación de agentes (travoprost) desde los depósitos de 1,5 a 5 meses para varias formulaciones elaboradas de acuerdo con los procesos del Ejemplo 1. Las formulaciones con mayores contenidos de glicólico, grupos terminales ácidos, pesos moleculares más bajos, micropartículas más pequeñas, formas amorfas y mayores cargas de fármaco producen velocidades de liberación del fármaco más rápidas. Las formulaciones con menor (o ningún) contenido de glicólico, grupos terminales éster, pesos moleculares más altos, micropartículas más grandes, formas cristalinas y menores cargas de fármaco producen velocidades de liberación del fármaco más lentas. Existen formulaciones de liberación sostenida comercializadas que han demostrado duraciones más cortas o más largas de liberación del fármaco. Por ejemplo, LUPRON DEPOT utilizado en el tratamiento del cáncer de próstata se puede formular en una dosis de 7,5 mg durante 1 mes o 45 mg de PLA durante 6 meses utilizando la guía de selección de la tasa de degradación descrita anteriormente. Se ha demostrado la persistencia de la biodegradación *in vivo* de polilactidas de grupo terminal éster, cristalinas y de alto peso molecular, hasta 3 años para dispositivos médicos.

Un enlace biodegradable en un organogel y/o xerogel y/o hidrogel y/o gel y/o precursor puede ser degradable en agua o enzimáticamente degradable. Los enlaces biodegradables degradables en agua ilustrativos incluyen polímeros, copolímeros y oligómeros de glicólico, dl-lactida, l-lactida, dioxanona, ésteres, carbonatos y carbonato de trimetileno. Los enlaces biodegradables enzimáticamente ilustrativos incluyen enlaces peptídicos escindibles por metaloproteinasas y colagenasas. Los ejemplos de enlaces biodegradables incluyen polímeros y copolímeros de poli(hidroxiácidos), poli(ortocarbonatos), poli(anhídridos), poli(lactonas), poli(aminoácidos), poli(carbonatos) y poli(fosfonatos).

Se pueden elegir partículas para que se degraden durante largos períodos de tiempo de modo que se puedan introducir dosis altas de un agente y liberarlas lentamente. Por ejemplo, el bimatoprost utilizado en la terapia del glaucoma se administró por vía intracameral y se demostró que proporcionaba una reducción de la PIO hasta 4 meses en estudios clínicos (Charters, L. Ophthalmology Times, 1 de agosto de 2016; el bimatoprost tiene una dosis de 10 µg). Ciertas realizaciones en el presente documento están dirigidas al uso de micropartículas cargadas con ácido travoprost que es aproximadamente de 7 a 50 veces más potente que el bimatoprost para los receptores de la malla trabecular humana. Debido a la diferencia de potencia, el bimatoprost (LUMIGAN) se administra convencionalmente por vía tópica una vez al día a una concentración del 0,03 %, mientras que el travoprost (TRAVATAN) se administra convencionalmente a una concentración menor del 0,004 %. Debido a la mayor potencia del ácido travoprost para los receptores de prostaglandinas, una dosis baja (10 - 100 µg) administrada durante dos años a partir de micropartículas fabricadas con polilactidas de alto peso molecular con grupos terminales éster o de policaprolactona proporcionará cantidades terapéuticas suficientes para la eficacia y la reducción de la PIO.

Formación de depósitos

Los depósitos compuestos se elaboran mediante un proceso que incluye la formación de una matriz reticulada a partir de un precursor. El término "un/una" significa uno o más. El término depósito abarca un depósito compuesto. Un hidrogel u organogel o un xerogel tiene una matriz que se forma mediante la reticulación de precursores entre sí para crear el hidrogel u organogel, que posteriormente puede transformarse en un xerogel. Los agentes, partículas u otros materiales pueden estar en los hidrogeles o xerogeles pero no son parte de la matriz. Los depósitos compuestos tienen

el hidrogel y las partículas que comprenden agentes que se liberan de las partículas. Las partículas proporcionan una matriz de liberación. La matriz de liberación se refiere a los materiales que forman las partículas alrededor del agente terapéutico; los agentes se liberan de la matriz de liberación. La formación de matrices de hidrogel u organogel se describe anteriormente. Dichas matrices, y los agentes dentro de ellas, se pueden hacer en moldes, fundir, hacer sobre una superficie o preparar de otra manera para lograr un tamaño y forma deseados para el depósito compuesto u otro depósito. Un depósito se puede hacer directamente o a partir de un material más grande mecanizando, cortando, troceando o dando otra forma de otro modo al material grande para darle el tamaño y forma deseados.

Las matrices pueden sufrir estiramiento o contracción antes, durante o después de la formación. Por ejemplo, en la figura 2, una matriz se forma inicialmente como un hidrogel u organogel. En una realización, esta matriz original se estira luego a una longitud mayor. Original se refiere a la matriz en el momento de la formación. En esta realización y en las otras realizaciones, el disolvente puede eliminarse antes, durante o después del estiramiento para formar un xerogel. En otra realización, la matriz original se mantiene a una longitud constante mientras se seca y se deja que se contraiga hasta alcanzar otras dimensiones. El xerogel puede procesarse posteriormente, por ejemplo, mediante estiramiento. En otra realización, la matriz original se seca y se deja que se contraiga en todas las dimensiones y un xerogel resultante se utiliza en la condición resultante o se procesa posteriormente, por ejemplo, se estira para aumentar su longitud.

En la figura 3, un xerogel preparado a partir de una matriz, por ejemplo, hidrogel u organogel, sufre un cambio de forma después de haber sido expuesto a un fluido fisiológico u otro medio acuoso. Por ejemplo, puede disminuir la longitud y aumentar en otras dimensiones, aumentar la longitud o tener la misma longitud. El estiramiento de la matriz se puede utilizar para alinear matrices reticuladas para crear una red de precursores reticulados que darán como resultado una alineación u otra orientación que impulse un cambio en las dimensiones. La publicación de EE. UU. n.º 2017/0143636 describe varios materiales y procedimientos para controlar los cambios de forma en respuesta a la exposición a un fluido acuoso, por ejemplo, fisiológico.

La figura 5 muestra un ejemplo de un proceso de elaboración de una matriz reticulada que contiene partículas que tienen agentes, formando un depósito compuesto. Se seleccionan partículas del tamaño y las características deseadas y se combinan con un precursor de hidrogel; esta mezcla se introduce en un molde, por ejemplo, un tubo, donde el precursor (o precursores) reaccionan (espontáneamente o se les inicia para reaccionar) para formar una matriz reticulada con micropartículas cargadas con fármaco incrustadas. Se realiza el estiramiento u otro procesamiento de la matriz, la matriz se seca y se corta al tamaño deseado, ya sea antes o después de retirarla del molde. El hidrogel se puede estirar o procesar de otro modo antes, durante o después del secado. Los depósitos resultantes pueden procesarse posteriormente, por ejemplo, empaquetarse, envasarse en kits o colocarse en aplicadores.

La figura 6 representa un depósito compuesto. Una matriz reticulada forma un hidrogel en solución acuosa. El hidrogel contiene una pluralidad de colecciones de partículas. Las partículas están incrustadas en el hidrogel, que las rodea. Cada una de las colecciones tiene propiedades elegidas independientemente de tamaño, material y agente. Se muestran las colecciones A, B, C y D, y las colecciones tienen diferentes tamaños. Las tasas de degradación de los elementos de la colección son diferentes y/o los agentes que liberan son diferentes. Las micropartículas administran los fármacos y el hidrogel y las micropartículas se disuelven.

Los depósitos son fundamentales para la seguridad y eficacia del agente terapéutico. El agente debe liberarse a una velocidad controlada para evitar la toxicidad y proporcionar una concentración eficaz durante el tiempo de uso previsto. Los depósitos son farmacéuticamente aceptables, y se eligen productos químicos y materiales adecuados para proporcionar velocidades de degradación adecuadas, esterilización, evitar reacciones secundarias no deseadas y degradarse para producir productos de degradación no tóxicos. Los productos de degradación deben ser no tóxicos y también solubles en agua para que puedan eliminarse del ojo u otra ubicación en el cuerpo mediante el flujo de fluido desde el sitio local de administración y exponerse a los procesos naturales del cuerpo para eliminar moléculas, tales como el sistema renal. El depósito es un hidrogel que proporciona biocompatibilidad para evitar reacciones indebidas a cuerpos extraños u otro compromiso celular no deseado. Los expertos están acostumbrados a determinar los niveles de toxicidad para determinar que un producto no es tóxico. Los depósitos y/o matrices y/o xerogeles y/o partículas pueden esterilizarse mediante irradiación u otros medios adecuados.

Carga con agentes; Preparación de partículas

Las matrices de hidrogel reticuladas se cargan con un agente o agentes que se disponen indirectamente en el hidrogel. La carga indirecta es preferente para que la liberación pueda controlarse mediante la degradación de una matriz de liberación en lugar del hidrogel.

Un proceso de carga indirecta es, por ejemplo, colocar un agente en matrices particuladas o un depósito y formar una matriz de hidrogel u organogel alrededor de ellos, de modo que el agente esté dentro de la partícula o depósito y, en el momento de la formación, no esté en contacto directo con la matriz de hidrogel u organogel. En algunas realizaciones, el agente o los agentes están presentes en una fase separada cuando se hacen reaccionar los precursores. La fase separada podría ser aceite (emulsión de aceite en agua), o un disolvente inmiscible, un liposoma,

una micela, un vehículo biodegradable o similar. Los materiales y partículas biodegradables se han analizado anteriormente.

El agente terapéutico o el agente terapéutico encapsulado puede estar presente en forma de solución o suspensión, incluso directamente en una matriz o indirectamente, por ejemplo, en una micropartícula. Algunos agentes son altamente solubles mientras que otros son efectivamente insolubles en solución acuosa y pueden formar su propia fase cuando se exponen a un solvente acuoso. Además, se puede fabricar una partícula que esté libre de uno o más de: aglutinantes, polímeros no peptídicos, surfactantes, aceites, grasas, ceras, polímeros hidrófobos, polímeros que comprenden cadenas de alquilo más largas que 4 grupos CH_2 , fosfolípidos, polímeros formadores de micelas, composiciones formadoras de micelas, anfífilos, polisacáridos, polisacáridos de tres o más azúcares, ácidos grasos y lípidos. Las proteínas liofilizadas, secadas por aspersión o procesadas de otra manera a menudo se formulan con azúcares tales como trehalosa para estabilizar la proteína a través de la liofilización u otros procesos utilizados para preparar las proteínas. Se puede permitir que estos azúcares persistan en la partícula durante todo el proceso de organogel/xerogel. Se puede hacer que las partículas apremiadas entre aproximadamente el 20 % y aproximadamente el 100 % (p/p seco) de agente. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de los intervalos establecidos explícitamente, por ejemplo, de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 80 % o al menos el 90 % o al menos aproximadamente el 99 %. Un agente puede prepararse como un polvo, y el tamaño de partícula del polvo se elige en función del tamaño del depósito o la partícula de hidrogel/organogel/xerogel. Los solventes orgánicos para los agentes pueden elegirse de modo que los agentes no sean solvatados por los disolventes orgánicos y sean compatibles con la proteína. Otro factor es el oxígeno, y la eliminación del oxígeno es útil en el procesamiento para evitar la desnaturalización de agentes sensibles. Otro factor son las reacciones químicas. En algunas realizaciones, las reacciones con precursores se evitan manteniendo los agentes en una fase separada durante la formación de la matriz original, mediante encapsulación en una partícula o manteniendo un agente en una fase sólida y libre de disolventes que disuelven el agente hasta el momento en que se utiliza el depósito.

Se puede formar un gel, un organogel o un hidrogel y luego reducirlo a partículas que posteriormente se tratan para eliminar el disolvente o disolventes orgánicos o acuosos para formar un xerogel. Para una forma inyectable, el organogel o hidrogel se puede macerar, homogeneizar, extruir, tamizar, picar, trocear o reducir de otro modo a una forma particulada. Alternativamente, el organogel o hidrogel se puede formar como una gota o un artículo moldeado que contiene las partículas de proteína suspendidas. Un proceso para fabricar dichas partículas implica la creación de un material que se descompone para formar las partículas. Una técnica implica preparar el organogel o hidrogel con partículas de proteína y molerlo, por ejemplo, en un molino de bolas o con un mortero. La matriz se puede picar o trocear con cuchillos o alambres. O la matriz se puede trocear en una licuadora u homogeneizador. Otro proceso implica forzar el organogel a través de una malla, recoger los fragmentos y pasarlos a través de la misma malla u otra malla hasta que se alcance un tamaño deseado.

Las partículas se pueden separar en colecciones con un intervalo de tamaño deseado y una distribución de tamaños mediante una variedad de procedimientos. Se puede controlar muy bien el tamaño, con tamaños que van desde 1 micra hasta varios mm, y con una media y un intervalo de tamaños de partículas que se pueden controlar con una distribución estrecha. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de los intervalos establecidos explícitamente, por ejemplo, desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 10 μm o desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 30 μm . De aproximadamente 1 hasta aproximadamente 500 micras es otro intervalo útil, con tamaños que se encuentran en todo el intervalo y tienen un tamaño medio en un valor dentro del intervalo, y una desviación estándar centrada alrededor del valor medio, por ejemplo, desde aproximadamente 1 % hasta aproximadamente 100 %. Un procedimiento sencillo para dimensionar partículas implica el uso de tamaños de malla de tamiz hechos a medida o estandarizados.

El término partícula se utiliza en sentido amplio en el presente documento para referirse a vehículos de administración que son pequeños, es decir, que tienen menos de aproximadamente 0,1 mm en la dimensión más grande. Una partícula puede tener cualquier forma, por ejemplo, esférica, achatada, elipsoidal, en forma de varilla, de disco, de tubo, hemisférica o de forma irregular. Una partícula esferoidal se refiere a una partícula en la que el eje central más largo (una línea recta que pasa por el centro geométrico de la partícula) no tiene más de aproximadamente el doble de la longitud de otros ejes centrales, siendo la partícula literalmente esférica o teniendo una forma irregular. Una partícula en forma de varilla se refiere a una partícula con un eje central longitudinal de más de aproximadamente el doble de la longitud del eje central más corto. Las realizaciones incluyen la fabricación de una pluralidad de colecciones de partículas, teniendo las colecciones diferentes tasas de degradación *in vivo*, y mezclando las colecciones para fabricar un biomaterial que tenga un rendimiento de degradación según se desee.

La figura 4 representa un ejemplo de un proceso de fabricación de partículas. En esta realización, un agente se suspende en un disolvente para formar una mezcla. Se añade un material degradable a la mezcla, que se denomina fase dispersa. Se prepara una mezcla de fase continua y se elige de modo que la fase continua no sea miscible con la fase dispersa. Se mezclan las dos mezclas y la fase dispersa forma una fase separada que contiene el agente. El proceso puede continuar para eliminar el disolvente de la fase dispersa. Las partículas resultantes, que son la fase dispersa, se recogen y procesan según sea necesario, por ejemplo, lavándolas y seleccionando los tamaños

deseados. A continuación, las partículas pueden usarse o procesarse más para su uso o almacenamiento, por ejemplo, mediante liofilización y/o congelación.

Degradación de depósitos y partículas

Ciertas realizaciones de depósitos compuestos se realizan con tres componentes esenciales, 1) una matriz de hidrogel, 2) polímero(s) para su uso en la elaboración de la matriz de liberación del fármaco, es decir, las micropartículas, que contienen un agente terapéutico, y (3) el propio agente. Una realización es un depósito compuesto por tres componentes principales: 1) una matriz de hidrogel biodegradable; 2) polímeros biodegradables de liberación sostenida (PLGA, PLA o similares) y 3) la sustancia activa del fármaco. Cada componente tiene una persistencia *in vivo* diferente que se puede formular para el resultado deseado. El término "que consiste" se refiere esencialmente a composiciones que tienen las características indicadas y pueden tener otros factores presentes siempre que no interfieran con la seguridad o la eficacia; ejemplos de dichos factores son sales, excipientes para un agente terapéutico y agentes de visualización.

Los materiales degradables para micropartículas se pueden elegir para que se degraden a una velocidad adecuada para administrar una dosis deseada de fármaco durante un período de tiempo. Los materiales de la matriz de hidrogel en masa, a su vez, se pueden elegir para que persistan durante un período de tiempo que sea más corto, más largo o comparable al tiempo en que se administra el fármaco. Estas relaciones se analizan en el contexto del IRR, anteriormente, de modo que la matriz de hidrogel y la liberación del fármaco desde las micropartículas pueden sincronizarse para la persistencia *in vivo* para permitir una administración repetida en el sitio de inyección en ausencia de la matriz de hidrogel. Esta realización permite un amplio espacio para la administración repetida porque la matriz de hidrogel no deja un residuo sólido. Por el contrario, muchos implantes comerciales sólidos de PLGA o PLA dejan un residuo, que recuerda a una cáscara o cascarilla mucho después de que el fármaco haya desaparecido. Por ejemplo, en muchos casos para administraciones parenterales de liberación sostenida, la ubicación de la inyección se altera entre administraciones repetidas debido a la tasa de biodegradación *in vivo* más lenta del implante de varilla o micropartículas localizadas en relación con la tasa de liberación del fármaco. El índice de retención de residuos de depósito es una medida del tiempo que persiste dicha cáscara después de la administración del fármaco.

Un agente puede disponerse en partículas degradables que proporcionan una matriz de liberación. Las partículas pueden ser el propio agente, por ejemplo, sólido o líquido, o las partículas pueden comprender, además, un material degradable. O bien, el agente puede estar directamente en el depósito en cualquier forma, líquida o sólida. O bien, el agente puede estar tanto en forma de partícula como directamente disperso en la matriz de xerogel o hidrogel. El agente se libera para proporcionar una concentración eficaz del agente en una cámara anterior u otro sitio durante un primer período de tiempo. La liberación es una liberación controlada que proporciona la liberación en el primer período de tiempo, que es un tiempo predeterminado. Las partículas y los materiales de la matriz de hidrogel y otros componentes se pueden elegir de modo que la hidrólisis y la erosión del hidrogel no sean un paso limitante de la velocidad de liberación del agente. Las partículas, los precursores, los depósitos, los materiales degradables, los agentes y otros componentes potenciales se analizan en detalle en otra parte del presente documento.

Agentes

Un depósito compuesto comprende un agente terapéutico. El agente puede tener un uso médico, por ejemplo, para tratar una afección médica, una enfermedad, brindar comodidad a un paciente, controlar el dolor, fines estéticos u otros. Afección médica es un término que incluye una enfermedad. Se pueden utilizar procesos convencionales para colocar un agente en la prótesis o el recubrimiento. Los agentes se pueden introducir en el momento de fabricar la prótesis o el recubrimiento o posteriormente. Los agentes también se pueden utilizar en radioterapias o en la obtención de imágenes médicas. Por ejemplo, implantes radiactivos, agentes de radioterapia, implantes de braquiterapia, toxinas, agentes anticancerígenos. Y, por ejemplo, agentes de obtención de imágenes para radiología.

Los agentes terapéuticos incluyen, por ejemplo, agentes para tratar afecciones que pueden resultar de afecciones vasculares inflamatorias o anormales, oclusión de la vena retiniana, atrofia geográfica, retinitis pigmentosa, retinoblastoma, etc. Para el cáncer, los agentes pueden ser, por ejemplo, fármacos anticancerígenos, anti-VEGF o fármacos conocidos por su uso en el tratamiento del cáncer.

Los agentes terapéuticos pueden ser aquellos que son, por ejemplo, anti-VEGF, bloqueador VEGFR1, bloqueador VEGFR2, bloqueador VEGFR3, anti-PDGF, antiangiogénesis, Sunitinib, E7080, Takeda-6d, Tivozanib, Regorafenib, Sorafenib, Pazopanib, Axitinib, Nintedanib, Cediranib, Vatalanib, Motesanib, macrólidos, sirolimus, everolimus, inhibidores de la tirosina quinasa (TKI), Imatinib (GLEEVAC), gefitinib (IRESSA), toceranib (PALLADIA), Erlotinib (TARCEVA), Lapatinib (TYKERB), Nilotinib, Bosutinib, Neratinib, lapatinib, Vatalanib, dasatinib, erlotinib, gefitinib, imatinib, lapatinib, lestaurtinib, nilotinib, semaxanib, toceranib, vandetanib.

El agente terapéutico puede comprender una macromolécula, por ejemplo un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo. La macromolécula terapéutica puede comprender un inhibidor del VEGF, por ejemplo ranibizumab, el ingrediente activo del Lucentis™ disponible comercialmente. El inhibidor del VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) puede provocar la regresión de los vasos sanguíneos anormales y la mejora de la visión cuando se libera en el humor

vítreo del ojo. Entre los ejemplos de inhibidores del VEGF se incluyen Lucentis™ (ranibizumab), Eylea™ (VEGF Trap), Avastin™ (bevacizumab), Macugen™ (pegaptanib). También se pueden administrar inhibidores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), por ejemplo, Fovista™, un aptámero anti-PGDF.

El agente terapéutico puede comprender moléculas pequeñas, tales como un esteroide o corticosteroide y análogos de los mismos. Por ejemplo, el corticosteroide terapéutico puede comprender uno o más de trimacinalona, acetónido de trimacinalona, dexametasona, acetato de dexametasona, flucinolona, acetato de flucinolona, etabonato de loteprednol o análogos de los mismos. Alternativamente o en combinación, las moléculas pequeñas del agente terapéutico pueden comprender un inhibidor de la tirosina quinasa.

El agente terapéutico puede comprender un agente terapéutico anti-VEGF. Las terapias y agentes anti-VEGF se pueden utilizar en el tratamiento de ciertos cánceres y en la degeneración macular relacionada con la edad. Los ejemplos de agentes terapéuticos anti-VEGF adecuados para su uso de acuerdo con las realizaciones descritas en este documento incluyen uno o más anticuerpos monoclonales, tales como bevacizumab (Avastin™) o derivados de anticuerpos tales como ranibizumab (Lucentis™), o moléculas pequeñas que inhiben las tirosina quinasas estimuladas por VEGF tales como lapatinib (Tykerb™), sunitinib (Sutent™), sorafenib (Nexavar™), axitinib o pazopanib.

El agente terapéutico puede comprender un agente terapéutico adecuado para el tratamiento de la DMAE seca, tal como uno o más de los siguientes: Sirolimus™ (Rapamicina), Copaxone™ (Acetato de Glatiramer), Othera™, bloqueador del complemento C5aR, factor neurotrófico ciliar, fenretinida o reoféresis.

El agente terapéutico puede comprender un agente terapéutico adecuado para el tratamiento de la DMAE húmeda, tal como uno o más de los siguientes: REDD14NP (Quark), Sirolimus™ (Rapamicina), ATG003; EYELEA (VEGF Trap) o inhibidor del complemento (POT-4).

El agente terapéutico puede comprender un inhibidor de quinasa tal como uno o más de BIBW 2992 (molécula pequeña dirigida a EGFR/Erb2), imatinib (molécula pequeña), gefitinib (molécula pequeña), ranibizumab (anticuerpo monoclonal), pegaptanib (molécula pequeña), sorafenib (molécula pequeña), dasatinib (molécula pequeña), sunitinib (molécula pequeña), erlotinib (molécula pequeña), nilotinib (molécula pequeña), lapatinib (molécula pequeña), panitumumab (anticuerpo monoclonal), vandetanib (molécula pequeña) o E7080 (dirigido a VEGFR2/VEGFR2, molécula pequeña disponible comercialmente en Eisai, Co.). El agente terapéutico puede comprender fármacos de anticuerpos, por ejemplo, bevacizumab, trastuzumab, cetuximab y panitumumab.

Los agentes terapéuticos pueden incluir varias clases de fármacos. Los fármacos incluyen, por ejemplo, esteroides, fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE), fármacos contra el cáncer, antibióticos, un antiinflamatorio (por ejemplo, diclofenaco), un analgésico (por ejemplo, bupivacaína), un bloqueador de los canales de calcio (por ejemplo, nifedipina), un antibiótico (por ejemplo, ciprofloxacino), un inhibidor del ciclo celular (por ejemplo, simvastatina), una proteína (por ejemplo, insulina). Los agentes terapéuticos incluyen clases de fármacos que incluyen esteroides, AINE, antioxidantes, antibióticos, analgésicos, inhibidores del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), quimioterapéuticos, fármacos antivirales, por ejemplo. Entre los ejemplos de AINE se encuentran el ibuprofeno, el meclofenamato sódico, el ácido mefanámico, el salsalato, el sulindaco, la tolmetina sódica, el ketoprofeno, el diflunisal, el piroxicam, el naproxeno, el etodolaco, el flurbiprofeno, el fenoprofeno cálcico, la indometacina, el celoxib, el ketorolaco y el nepadrenaco. Los fármacos en sí pueden ser moléculas pequeñas, proteínas, fragmentos de ARN, proteínas, glicosaminoglicanos, carbohidratos, ácidos nucleicos, compuestos biológicamente activos orgánicos e inorgánicos, donde los agentes biológicamente activos específicos incluyen, entre otros: enzimas, antibióticos, agentes antineoplásicos, anestésicos locales, hormonas, agentes angiogénicos, agentes antiangiogénicos, factores de crecimiento, anticuerpos, neurotransmisores, fármacos psicoactivos, fármacos contra el cáncer, fármacos quimioterapéuticos, fármacos que afectan a los órganos reproductivos, genes y oligonucleótidos, u otras configuraciones.

Los agentes terapéuticos pueden incluir una proteína u otros productos biológicos solubles en agua. Estos incluyen péptidos de diversos pesos moleculares. Los péptidos incluyen proteínas y péptidos terapéuticos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, fragmentos variables de cadena corta (scFv), factores de crecimiento, factores angiogénicos e insulina. Otros productos biológicos solubles en agua son carbohidratos, polisacáridos, ácidos nucleicos, ácidos nucleicos antisentido, ARN, ADN, ARN interferente pequeño (ARNpi) y aptámeros.

Los agentes terapéuticos pueden usarse como parte de un procedimiento para tratar la afección indicada o para elaborar una composición para tratar la afección indicada. Por ejemplo, AZOPT (una suspensión oftálmica de brinzolamida) puede usarse para el tratamiento de la presión intraocular elevada en pacientes con hipertensión ocular o glaucoma de ángulo abierto. BETADINE en una solución oftálmica de povidona yodada puede usarse para preparar la región periocular e irrigar la superficie ocular. BETOPTIC (betaxolol HCl) puede usarse para reducir la presión intraocular o para el glaucoma de ángulo abierto crónico y/o la hipertensión ocular. CILOXAN (solución oftálmica de ciprofloxacino HCl) se puede utilizar para tratar infecciones causadas por cepas susceptibles de microorganismos. NATACYN (suspensión oftálmica de natamicina) se puede utilizar para el tratamiento de la blefaritis, la conjuntivitis y la queratitis fúngicas. NEVANAC (suspensión oftálmica de nepanfenaco) se puede utilizar para el tratamiento del dolor y la inflamación asociados con la cirugía de cataratas. TRAVATAN (solución oftálmica de travoprost) se puede utilizar

para la reducción de la presión intraocular elevada (glaucoma de ángulo abierto o hipertensión ocular). FML FORTE (suspensión oftálmica de fluorometolona) se puede utilizar para el tratamiento de la inflamación que responde a los corticosteroides de la conjuntiva palpebral y bulbar, la córnea y el segmento anterior del globo ocular. LUMIGAN (solución oftálmica de bimatoprost) se puede utilizar para la reducción de la presión intraocular elevada (glaucoma de ángulo abierto o hipertensión ocular). PRED FORTE (acetato de prednisolona) puede utilizarse para el tratamiento de la inflamación que responde a los esteroides de la conjuntiva palpebral y bulbar, la córnea y el segmento anterior del globo ocular. PROPINE (clorhidrato de dipivefrina) puede utilizarse para controlar la presión intraocular en el glaucoma crónico de ángulo abierto. RESTASIS (emulsión oftálmica de ciclosporina) puede utilizarse para aumentar la producción de lágrimas en pacientes, por ejemplo, aquellos con inflamación ocular asociada con queratoconjuntivitis seca. ALREX (suspensión oftálmica de etabonato de loteprednol) se puede utilizar para el alivio temporal de la conjuntivitis alérgica estacional. LOTEMAX (suspensión oftálmica de etabonato de loteprednol) se puede utilizar para el tratamiento de la inflamación que responde a los esteroides de la conjuntiva palpebral y bulbar, la córnea y el segmento anterior del globo ocular. MACUGEN (inyección de pegaptanib sódico) se puede utilizar para el tratamiento de la degeneración macular neovascular (húmeda) relacionada con la edad. OPTIVAR (clorhidrato de azelastina) se puede utilizar para el tratamiento del picor ocular asociado con la conjuntivitis alérgica. XALATAN (solución oftálmica de latanoprost) se puede utilizar para reducir la presión intraocular elevada en pacientes, por ejemplo, con glaucoma de ángulo abierto o hipertensión ocular. BETIMOL (solución oftálmica de timolol) se puede utilizar para el tratamiento de la presión intraocular elevada en pacientes con hipertensión ocular o glaucoma de ángulo abierto. El latanoprost es el profármaco de la forma de ácido libre, que es un agonista selectivo del receptor FP de prostanoide. El latanoprost reduce la presión intraocular en pacientes con glaucoma con pocos efectos secundarios. El latanoprost tiene una solubilidad relativamente baja en soluciones acuosas, pero es fácilmente soluble en disolventes orgánicos que se emplean habitualmente para la fabricación de microesferas mediante evaporación de disolventes.

Otras realizaciones de agentes terapéuticos para administración incluyen aquellos que se unen específicamente a un péptido objetivo *in vivo* para evitar la interacción del péptido objetivo con su receptor natural u otros ligandos. AVASTIN, por ejemplo, es un anticuerpo que se une al VEGF. También se conoce una trampa de IL-1 que hace uso de los dominios extracelulares de los receptores de IL-1; la trampa impide que la IL-1 se una y active los receptores en la superficie de las células. Las realizaciones de agentes para administración incluyen ácidos nucleicos, por ejemplo, aptámeros. El pegaptanib (MACUGEN), por ejemplo, es un aptámero anti-VEGF pegilado. Una ventaja del proceso de administración de partículas e hidrogel es que los aptámeros están protegidos del entorno *in vivo* hasta que se liberan. Otras realizaciones de agentes para administración incluyen fármacos macromoleculares, un término que se refiere a fármacos que son significativamente más grandes que los fármacos de moléculas pequeñas clásicos, es decir, fármacos tales como oligonucleótidos (aptámeros, antisentido, ARNi), ribozimas, ácidos nucleicos de terapia génica, péptidos recombinantes y anticuerpos.

Una realización comprende la liberación prolongada de un medicamento para la conjuntivitis alérgica. Por ejemplo, el ketotifeno, un antihistamínico y estabilizador de mastocitos, puede proporcionarse en partículas y liberarse en el ojo como se describe en este documento en cantidades eficaces para tratar la conjuntivitis alérgica. La conjuntivitis alérgica estacional (SAC) y la conjuntivitis alérgica perenne (PAC) son trastornos conjuntivales alérgicos. Los síntomas incluyen picazón y ojos rosados o enrojecidos. Estas dos afecciones oculares están mediadas por los mastocitos. Las medidas no específicas para mejorar los síntomas incluyen convencionalmente: compresas frías, colirios con sustitutos de lágrimas y evitar los alérgenos. El tratamiento convencional consiste en estabilizadores antihistamínicos de los mastocitos, agentes antialérgicos de doble mecanismo o antihistamínicos tópicos. Los corticosteroides pueden ser efectivos pero, debido a los efectos secundarios, se reservan para formas más graves de conjuntivitis alérgica, tales como la queratoconjuntivitis vernal (VKC) y la queratoconjuntivitis atópica (AKC).

La oxifloxacina es el ingrediente activo de VIGAMOX, que es una fluoroquinolona aprobada para su uso en el tratamiento o prevención de infecciones bacterianas oftálmicas. La VKC y la AKC son enfermedades alérgicas crónicas en las que los eosinófilos, los fibroblastos conjuntivales, las células epiteliales, los mastocitos y/o los linfocitos TH2 agravan la bioquímica y la histología de la conjuntiva. La VKC y la AKC se pueden tratar con medicamentos utilizados para combatir la conjuntivitis alérgica. Los agentes de permeación son agentes y también pueden incluirse en un gel, hidrogel, organogel, xerogel y biomateriales como se describe en este documento. Estos son agentes que ayudan a la permeación de un fármaco en un tejido deseado. Los agentes de permeación se pueden elegir según sea necesario para el tejido, por ejemplo, agentes de permeación para la piel, agentes de permeación para el tímpano y agentes de permeación para el ojo.

El agente puede ser el tratamiento de una enfermedad del fondo de ojo, por ejemplo, en la que la enfermedad del fondo de ojo es degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), edema macular cistoide (EMC), edema macular diabético (EMD), uveítis posterior y retinopatía diabética o glaucoma.

Los agentes pueden ser, por ejemplo, un agente que comprende anti-VEGF, bloqueadores de VEGFR1, bloqueadores de VEGFR2, bloqueadores de VEGFR3, anti-PDGF, anti-PDGF-R que bloquea PDGFR β , un agente antiangiogénico, Sunitinib, E7080, Takeda-6d, Tivozanib, Regorafenib, Sorafenib, Pazopanib, Axitinib, Nintedanib, Cediranib, Vatalanib, Motesanib, macrólidos, sirolimus, everolimus, inhibidores de la tirosina quinasa (TKI), Imatinib, gefinitib, toceranib, Erlotinib, Lapatinib, Nilotinib, Bosutinib, Neratinib, lapatinib, Vatalanib, comprende análogos de prostaglandina poco solubles para el glaucoma, nepafenac, macrólidos, rapamicina, sirolimus, tacrolimus, o sirve para bloquear los

receptores mTOR para la DMAE (también conocida como neovascularización coroidea (CNV). mTOR se refiere a la diana mamífera de la rapamicina. Los agentes pueden ser, por ejemplo, moxifloxacina, dexametasona, travoprost, esteroides, fluoroquinolonas, análogos de prostaglandinas, prostamidas.

5 **Ejemplos de depósitos y carga**

Un depósito compuesto puede fabricarse en un tamaño y forma adecuados para su sitio de uso previsto. Una realización de un depósito, adecuado para su uso en una CA u otro sitio, es un depósito reticulado que, como hidrogel, tiene un diámetro de menos de 1 mm con un contenido de agua en equilibrio. La longitud del depósito puede ser, por ejemplo, de 0,1 a 10 mm. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mm. La longitud es la dimensión más larga y el diámetro se refiere a la segunda dimensión más larga de un depósito que tiene una longitud, un ancho y un espesor. En el caso de un cilindro circular, un ancho y un espesor serían iguales. El término diámetro se refiere al mayor de los valores de ancho y espesor. Uno o más valores de longitud, ancho, espesor o diámetro pueden ser, por ejemplo, de 0,1 a 10 mm o, para sitios más grandes, de 5 a 500 mm. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 mm. Como es evidente, una o más dimensiones de longitud, anchura, grosor y diámetro pueden ser inferiores a 1-100 mm. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior: 1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,8, 1,9, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 mm.

El depósito puede comprender partículas que comprenden un agente o estar libre de partículas que comprenden un agente. Las partículas pueden ser, por ejemplo, micropartículas y/o nanopartículas. Las micropartículas o nanopartículas pueden tener, por ejemplo, un diámetro de 0,001 a menos de 100 micras. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: 0,001, 0,01, 0,1, 0,2, 0,5, 1, 1,5, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 35, 38, 40, menos de 40. Estos tamaños de partículas pueden ser para algunas de las partículas, o para todas las partículas, o para todas las partículas que contienen el agente. Las micropartículas se encuentran dentro de estos intervalos y tienen diámetros de 1 a 100 micras, por ejemplo, de 1 a 55, de 1 a 20 o de 10 a 53 micras de diámetro.

El xerogel puede comprender una cantidad del agente que va del 1 al 75 % p/p. Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75. Un xerogel puede cargarse con una cantidad adecuada de un agente, por ejemplo, un depósito que tiene una cantidad del agente que va de 1 a 10.000 microgramos (μg). Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: 1, 2, 3, 4, 5, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1.000, 2.000, 5.000, 10.000, 50.000 o 100.000 μg .

El xerogel o hidrogel puede tener una forma adecuada, por ejemplo, una partícula puede tener cualquier forma, por ejemplo, esférica, achatada, elipsoidal, en forma de varilla, de disco, de tubo, hemisférica o de forma irregular.

Los volúmenes de los depósitos pueden ser, por ejemplo, de 0,1 microlitros (μl) a 100 mililitros (ml). Los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites establecidos explícitamente, y que, por ejemplo, cualquiera de los siguientes está disponible como límite superior o inferior: 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 μl o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 25, 50, 60, 70, 90, 100 ml.

Como es evidente, las combinaciones de las características se pueden mezclar y combinar, por ejemplo, en donde el hidrogel tiene forma de varilla y tiene un diámetro de no más de 1 mm o no más de 1,6 mm. O en donde el hidrogel tiene forma de disco, esférico o hemisférico con un diámetro de no más de 1 mm o no más de 1,5 mm o no más de 1,6 mm. En otras partes del presente documento se proporcionan diversos depósitos, agentes, materiales y opciones para colocar agentes en depósitos.

Estados de enfermedades oculares

Los materiales descritos en el presente documento se pueden utilizar para hacer un depósito para administrar fármacos u otros agentes terapéuticos (por ejemplo, agentes de obtención de imágenes o marcadores) a los ojos o tejidos cercanos. El depósito es preferentemente un depósito compuesto que comprende una matriz (xerogel o hidrogel) con partículas incrustadas.

Las enfermedades oculares incluyen patologías oculares, siendo el hifema, la hipertensión ocular y el glaucoma las afecciones para el tratamiento con un depósito de cámara anterior. Muchos agentes son adecuados para la

administración ocular, por ejemplo, AINE, esteroides, fármacos antiglaucomatosos, antivirales, antibióticos, midriáticos y antifúngicos administrados mediante inyecciones intracamerales.

Algunos de los estados patológicos son enfermedades del fondo de ojo. El término enfermedad del fondo de ojo es reconocido por los expertos en estos campos de actividad y generalmente se refiere a cualquier enfermedad ocular del segmento posterior que afecta a la vasculatura y la integridad de la retina, la mácula o la coroides, lo que provoca alteraciones de la agudeza visual, pérdida de la visión o ceguera. Los estados patológicos del segmento posterior pueden ser resultado de la edad, traumatismos, intervenciones quirúrgicas y factores hereditarios. Algunas enfermedades del fondo de ojo son: degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), edema macular cistoide (EMC), edema macular diabético (EMD), uveítis posterior y retinopatía diabética. Algunas enfermedades del fondo de ojo son resultado de una angiogénesis o proliferación vascular no deseada, como la degeneración macular o la retinopatía diabética. Las opciones de tratamiento farmacológico para estas y otras afecciones oculares pueden proporcionarse mediante la administración de agentes desde un depósito.

Después de la colocación en el ojo, las realizaciones incluyen un depósito que proporciona una concentración del agente que va de 0,05 a 500 ng/mL en una cámara anterior del ojo. Un depósito para el ángulo iridocorneal, en particular para el glaucoma de ángulo abierto, podría tener, por ejemplo, de 0,2 a 1,5 mm de diámetro y de 0,5 a 5 mm de longitud. En lo que respecta a estas dimensiones, los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre los límites explícitamente establecidos, estando, por ejemplo, cualquiera de los siguientes disponibles como límite superior o inferior: 0,2, 0,3, 0,5, 0,7, 0,9, 1, 1,1, 1,3, 1,5 mm (diámetro) o 0,5, 0,6, 0,8, 1, 1,2, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5 mm (longitud).

Kits

Se pueden preparar kits o sistemas. Los kits pueden incluir materiales según sea necesario para que el personal médico utilice los depósitos. Los kits se fabrican utilizando condiciones médicamente aceptables y contienen depósitos que tienen esterilidad, pureza y preparación que es farmacéuticamente aceptable. El kit puede contener un aplicador según sea apropiado, así como instrucciones. En algunas realizaciones, el kit tiene al menos un depósito y un aplicador. Los kits pueden incluir, por ejemplo, elementos tales como un depósito, medio acuoso para la hidratación del depósito, un aplicador, una aguja, un aplicador o aguja precargada con un depósito, una luz u otra máquina para la visualización del depósito, herramientas quirúrgicas, dispositivos de corte, fármacos tópicos o analgésicos tópicos.

Administración

Los materiales descritos en este documento se pueden utilizar para administrar agentes. Un modo de aplicación es pasar un depósito a través de una aguja, microaguja, cánula, catéter o alambre hueco a un sitio. Algunos sitios requieren un proceso de administración cuidadoso, por ejemplo, en un ojo. Se pueden utilizar agujas finas o agujas de longitud limitada. El trabajo se puede realizar, si es necesario, con aumento, con un estereoscopio, con imágenes guiadas o con robots (por ejemplo, como los descritos por la Universidad Tecnológica de Eindhoven). Se pueden fabricar depósitos con tamaños y lubricidad para la inyección manual a través de una aguja de calibre pequeño, por ejemplo, una aguja de calibre 27 o una aguja más pequeña, por ejemplo, una aguja de calibre 30.

Se pueden colocar uno o más depósitos (por ejemplo, 1-10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) en la cámara anterior de un ojo o en otros sitios. Los sitios para un depósito incluyen el ojo, el vítreo, la episcleral, en el espacio subtenoniano posterior (fórnix inferior), subconjuntival, subtenoniano, retiniano, subretiniano, intracanalicular, intracameral, intravítreo, intraescleral, coroideo, supracoroideo, una retina, subretiniano o un cristalino, una superficie de la córnea o la conjuntiva, entre otros. En consecuencia, las realizaciones incluyen proporcionar una cantidad eficaz o una cantidad eficaz calculada de un agente en dicho sitio, por ejemplo, la cantidad eficaz en un ojo, la cámara anterior, el vítreo, episcleral, en el espacio subtenoniano posterior (fórnix inferior), subconjuntival, subtenoniano, retiniano, subretinal, intracanalicular, intracameral, intravítreo, intrascleral, coroideo, supracoroideo, una retina, subretinal o un cristalino, una superficie de la córnea o la conjuntiva.

Los sitios para un depósito incluyen, además, un tejido, lumen, vacío, espacio potencial, dentro de un animal (humano o de otro tipo) o sobre una superficie de un animal. El término tejido es amplio. Los sitios incluyen sitios iatrogénicos, sitios donde se extrae tejido y sitios quirúrgicos. Los sitios incluyen tejido canceroso, en o cerca de tejido canceroso, tejido dental, encías, periodontal, sinusal, cerebro, intravascular, aneurisma y sitio de una patología. Los sitios para un depósito incluyen aberturas en un tejido. Las realizaciones incluyen depósitos que pasan dentro o a través de un lumen natural o artificial, por ejemplo, un esfínter, un conducto, un ostium, un seno u otro lumen. Los lúmenes artificiales se fabrican con fines médicos, por ejemplo, para administrar un fármaco, para cirugía u otros fines médicos o cosméticos. El depósito tiene el tamaño adecuado.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Formación de artículos de prueba para pruebas en animales

El travoprost se utilizó como agente terapéutico modelo para la administración y también como prueba de eficacia. Los artículos de prueba 1 y 2 se elaboraron con las formulaciones indicadas en la Tabla 1. En referencia a las figuras 4 y 5, las micropartículas se elaboraron disolviendo travoprost en diclorometano (DCM) y luego poli DL-lactida (ya sea 100 DL 4A, 100 DL 7A, 100 DL 9A o 100 DL 4,5E) en la solución de DCM/travoprost a concentraciones específicas. A o E se refieren a grupos terminales ácidos o ésteres en el PLA. 4, 7, 9 y 4,5 se refieren a la viscosidad inherente a una concentración definida (generalmente 0,1 o 0,5 %) en cloroformo a una temperatura definida (generalmente 25 o 30 °C). La diferencia de procedimiento en la viscosidad inherente depende del proveedor. Esta viscosidad inherente está directamente relacionada con el peso molecular medio del polímero de lactida (sin embargo, se entiende que todos los polímeros están dentro de un intervalo). Un número menor es un PM más corto y un número mayor es un PM más alto (4 es aproximadamente 50 kD, 4,5 es aproximadamente 60 kD, 7 es aproximadamente 100 kD y 9 es aproximadamente 135 kD). Se colocó una solución de alcohol polivinílico al 1 % en agua para inyección (WFI) en un reactor con deflectores encamisados con agitación (la fase continua). La mezcla que contenía DL-lactida se inyectó en el reactor donde formó una fase dispersa separada. La reacción se llevó a cabo durante la noche con agitación, mientras que las partículas se endurecieron debido a la extracción y evaporación del DCM. Las partículas se retiraron del reactor, se lavaron con agua y se tamizaron en colecciones de partículas según el tamaño. Las colecciones se alicuotaron en viales y se liofilizaron. Las partículas se almacenaron congeladas hasta su uso. El acetato de trilisina se hizo reaccionar con NHS fluoresceína a pH básico en una proporción predeterminada para formar un conjugado de fluoresceína-trilisina. Se preparó una solución acuosa de 8a15K PEG SAP en agua. Se añadieron colecciones de partículas de travoprost encapsuladas en micropartículas secas 4A, 7A, 9A y 4,5E (aproximadamente 2:2:1:5 partes p/p) a una solución acuosa de trilisina conjugada con fluoresceína tamponada con fosfato y se mezclaron con la solución de 8a15K PEG SAP, y se inyectaron en un tubo de silicona de pequeño calibre. Se tapó el tubo y se dejó que los precursores de hidrogel que contenían micropartículas suspendidas reaccionaran. Se estiró el tubo hasta que quedó tenso y luego se secó a baja temperatura en un horno y se sometió a contracción durante el secado. Se retiró el hidrogel del tubo y se lo cortó en secciones. Las concentraciones de los diversos componentes se eligieron para proporcionar la composición del Artículo de prueba 1 (dosis de 40 µg de travoprost, 0,25 ± 0,02 mm de diámetro x 3,01 ± 0,03 mm de longitud) o del Artículo de prueba 2 (dosis de 26 µg de travoprost, 0,21 ± 0,01 mm de diámetro x 3,02 ± 0,02 mm de longitud). El contenido y una comparación de la composición de la formulación de los artículos de prueba se proporcionan en la Tabla 1.

Tabla 1: Composición del producto de los artículos de prueba utilizados en el estudio

Ingredientes	Artículo de prueba 1		Artículo de prueba 2	
	Según la formulación (% en base seca)	Composición teórica (µg, en base seca)	Según la formulación (% en base seca)	Composición teórica (µg, en base seca)
Travoprost	25,5 %	40	25,5 %	26
8a15K PEG SAP	34,6 %	54	34,6 %	36
Poli(DL-lactida) 4A	6,8 %	11	6,8 %	7
Poli(DL-lactida) 7A	6,8 %	11	6,8 %	7
Poli(DL-lactida) 9A	3,4 %	5	3,4 %	3
Poli(DL-lactida) 4,5E	16,9 %	27	16,9 %	17
Fosfato sódico	3,3 %	5	3,3 %	3
NHS-Fluoresceína	2,4 %	4	2,4 %	2
Acetato de trilisina	0,4 %	0,6	0,4 %	0,4
Peso promedio	N/A	157 µg	N/A	103 µg

Ejemplo 2: formación de artículos para pruebas *in vitro*

Los artículos para pruebas *in vitro* se fabricaron de acuerdo con el proceso del Ejemplo 1. La prueba de liberación *in vitro* se realizó en condiciones de inmersión utilizando condiciones fisiológicas simuladas (PBS, pH 7,4 a 37 °C) con la excepción de la adición de 0,5 % de aceite de ricino hidrogenado polioxil 40 al medio de disolución para aumentar la solubilidad del travoprost. Este surfactante se utiliza como agente potenciador de la solubilidad en las gotas oftálmicas TRAVATAN. La figura 7 muestra la liberación *in vitro* de las micropartículas (componentes individuales y/o combinados para proporcionar una dosis de 40 µg) en la matriz de hidrogel en condiciones fisiológicas simuladas (solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4 a 37 °C con la adición de surfactante para ayudar a la solubilidad del fármaco en el medio de disolución para asegurar las condiciones de inmersión) realizada anteriormente, según la Tabla 1. En resumen, las colecciones se colocaron en un exceso de este medio de disolución y se tomaron muestras en puntos temporales definidos y se analizaron para determinar el contenido de travoprost mediante cromatografía líquida de ultrarrendimiento de fase inversa con detección de luz ultravioleta. Las concentraciones de muestra de las áreas de los picos se calcularon en relación con una curva estándar.

Ejemplo 3: Pruebas en animales con depósitos del Ejemplo 1.

Tarea: Tres beagles hembras no preñadas y núlparas, de al menos 6 meses de edad, fueron asignadas a este estudio (Toxikon, Inc.) según el protocolo IACUC para su uso en estudios oftalmológicos. La asignación de los animales se proporciona en la Tabla 2. Los animales fueron identificados por los números de tatuaje de la oreja como 2277, 4563 y 1896.

Tabla 2: Asignación de animales

N.º de animal	Ojo	Artículo de prueba	Dosis de travoprost
2277	OI	2	26 µg
2277	OD	2	26 µg
1896	OI	1	40 µg
1896	OD	2	26 µg
4563	OI	1	40 µg
4563	OD	2	26 µg

Administración de la dosis: Los perros fueron anestesiados antes del procedimiento de inyección. Inicialmente, los perros fueron sedados con dexmedetomidina y luego se les administró isoflurano por inhalación. A ambos ojos se les administraron 1 o 2 gotas de clorhidrato de proparacaína por vía tópica antes del procedimiento. El pelaje que rodeaba el ojo se limpió con una solución de povidona yodada (Betadine®). El artículo de prueba apropiado, véase la Tabla 2, se inyectó en la cámara anterior mientras se observaba bajo un microscopio quirúrgico utilizando una aguja de 27G fijada a una jeringa Hamilton con émbolo de acero inoxidable para desplegar el depósito. Un procedimiento de inyección representativo se ve en las figuras 8A-8D.

Una vez completada la inyección, se trató el ojo con una gota de ungüento antibiótico profiláctico (eritromicina oftálmica). Se le retiró al perro el isoflurano y el gas oxígeno (O₂) y se administró un volumen igual de atipamezol por vía intramuscular (IM) para revertir los efectos del sedante.

Plan de evaluación posterior a la dosis: Se evaluó a los animales en los momentos especificados después del procedimiento de inyección según las evaluaciones que se enumeran en la Tabla 3.

Tabla 3: Se realizaron evaluaciones oculares en los momentos especificados después de la inyección de depósito

Evaluación	Días
Salud ocular	3, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126, 140
Fotografías de la esclerótica	
¹ Ubicación del depósito	
Constricción pupilar (cualitativa)	3, 7, 14, 42
Constricción pupilar (cuantitativa)	28, 56, 70, 84, 98, 112, 126, 140
Examen oftálmico	28, 56, 84, 112, 140
Tonometría (PIO)	

Evaluación	Días
Paquimetría	
² Punción de humor acuoso	
Fotografías del depósito	
¹ Registro de la ubicación general como las manecillas de un reloj con la parte inferior del ojo como las 6:00 horas	
² Realizada con una aguja de insulina de 30 G y recogida de 0,1 ml en un tubo de microcentrífuga (congelación)	

Salud ocular: Se evaluaron los ojos como sanos o normales y se registraron todas las anomalías visuales.

- 5 *Fotografías de la esclerótica:* Se tomaron fotografías de la esclerótica para comparar cualitativamente la hiperemia a lo largo del tiempo entre las imágenes.

- 10 *Ubicación del depósito:* La ubicación del depósito se visualizó utilizando una luz azul y gafas con filtro amarillo o una lámpara de hendidura fijada con un filtro amarillo para observar la ubicación del depósito dentro de la CA. Se realizaron registros utilizando las horas del reloj para aproximar la ubicación visual.

Constricción pupilar (cualitativa y cuantitativa): La constricción pupilar se evaluó visualmente de forma cualitativa o se midió cuantitativamente utilizando una regla. Los valores inferiores a 1 mm se registraron como < 1 mm.

- 15 *Exámenes oftálmicos:* En animales anestesiados, se examinaron ambos ojos de cada perro para detectar hallazgos macroscópicos y se calificaron de acuerdo con los sistemas de puntuación combinados Draize y McDonald-Shadduck. (Wilhelmus, Kirk R. "The Draize eye test." Survey of ophthalmology 45.6 (2001):493-515.; McDonald, T. O., y J. A. Shadduck. "Eye irritation. Advances in Modern Toxicology, IV: Dermatotoxicology and Pharmacology." (1977)). Los exámenes incluyeron biomicroscopía con lámpara de hendidura y tinción con fluoresceína. Específicamente, el examen con lámpara de hendidura buscó alteraciones en la córnea, la conjuntiva, el iris, la cámara anterior y el cristalino. La superficie corneal también se evaluó utilizando tinción con fluoresceína. El examen incluyó una evaluación de si se observó algún edema corneal próximo al depósito. A continuación se proporcionan las tablas utilizadas para puntuar los estudios.

- 25 *Tonometría:* En animales anestesiados, se realizó una tonometría para medir la presión intraocular (PIO) utilizando un TONÓMETRO TONOVET (TioLAT, Helsinki, Finlandia).

- 30 *Paquimetría:* En animales anestesiados, se realizó una paquimetría para medir el espesor corneal utilizando un paquímetro portátil iPac® (Reichert, Inc., Depew, NY).

Fotografías de los depósitos: En animales anestesiados, se realizaron fotografías de los depósitos tanto a través de un microscopio quirúrgico como utilizando una cámara fijada con un filtro amarillo mientras se iluminaba el depósito con una fuente de luz azul.

- 35 *Punciones de humor acuoso (HA):* Se realizó una punción en el HA utilizando una aguja de insulina de 30G para recoger aproximadamente 0,1 mL de HA. El material se transfirió a un tubo de microcentrífuga y la muestra se almacenó inmediatamente congelada en hielo seco. Las muestras se enviaron congeladas en hielo seco a Molecular MS Diagnostics (Warwick, RI) para la determinación de la concentración de travoprost y ácido libre de travoprost mediante una extracción en fase sólida en línea con HPLC-MS/MS con un límite de cuantificación validado de 50 pg/mL.

Ejemplo 4: Resultados para los animales del Ejemplo 3.

- 45 *Salud ocular:* La salud ocular de todos los animales se registró como normal o saludable durante la duración del estudio. *Fotografías de la esclerótica:* Las fotografías de la esclerótica durante la duración del estudio que indican cualitativamente hiperemia se muestran en las figuras 10A-10F. Las imágenes indican dilatación de los vasos sanguíneos de salida después de la administración con OTX-TI y una reducción general de esta hiperemia/enrojecimiento escleral con el tiempo. Se sabe que el travoprost (0,004 %) administrado una vez al día a beagles sanos normales durante 5 días de tratamiento demostró hiperemia durante todo el período de tratamiento (Carvalho *et al.*, 2006). Se observó en la esclerótica una dilatación de los vasos de salida con una prostaglandina F2α de liberación sostenida similar (bimatoprost) administrada por inyección intracameral a beagles y se informó que dependía de la dosis de bimatoprost (Hughes *et al.*, 2010).

- 55 *Ubicación del depósito:* La ubicación del depósito, que se muestra en la Tabla 4, se visualizó y registró generalmente cerca de la parte inferior del ojo en el ángulo iridocorneal. Dos de los cuatro depósitos no eran visibles el día 70 y los

seis no eran visibles el día 84. Esto indica que el componente de hidrogel fluoresceinado de esta formulación (7,5 % 8a20KSAP) tiene una duración aproximada *in vivo* en el HA del beagle de aproximadamente 2,5 a 3 meses.

Tabla 4: Ubicación del depósito de OTX-TI durante la duración del estudio

Día	Animal/Ojo					
	2277 OI	2277 OD	1896 OI	1896 OD	4563 OI	4563 OD
3	5:00	6:30	7:30	6:00	6:00	5:30
7	7:00	6:00	6:00	5:30	8:30	7:00
14	7:00	7:00	6:00	7:00	6:30	5:30
28	N/A ¹	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00
42	6:00	7:00	6:00	6:00	6:00	6:00
56	8:00	5:00	6:00	7:00	5:00	6:30
70	6:30	5:30	no visible	6:00	6:00	no visible
84	no visible	no visible	no visible	no visible	no visible	no visible
98	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
112	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
126	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
140	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

¹ Animal saliendo de la anestesia durante la verificación de la ubicación del depósito; la ubicación no está confirmada

Fotografías de los depósitos: Las imágenes representativas de OTX-TI en la CA tomadas el día 28 y fotografiadas en condiciones de iluminación natural y de fluorescencia se muestran en las figuras 11A-11D. En la figura 12 se muestran imágenes representativas de OTX-TI en la CA tomadas el día 56 y fotografiadas bajo condiciones de iluminación de fluorescencia. Los resultados muestran que el depósito está completamente intacto y generalmente se encuentra en la parte inferior de la CA en el ángulo iridocorneal, como se indica en la tabla 4.

Constricción pupilar (cualitativa y cuantitativa): La pupila se contrajo (< 2 mm) en todos los animales durante 112 días. En los días 126 y 140, la pupila no mostró constricción, como se muestra en la tabla 5. Los resultados concuerdan bien con los informados en la bibliografía para beagles glaucomatosos que demostraron constricción pupilar (miosis) cuando se les administró una vez al día gotas de travoprost al 0,004 % (Gelatt y MacKay, 2004). Los resultados de constricción pupilar demuestran una respuesta farmacodinámica al travoprost administrado por OTX-TI en el modelo beagle durante 112 días.

En este ejemplo, el índice de retención de residuos de depósito basado en la visualización del hidrogel fue de 84/112 = 0,75. En este caso, es evidente que, basándose en el tiempo de constricción pupilar prolongado, las micropartículas persistieron aproximadamente un 33 % más que la capa de hidrogel. Una implicación alternativa es que el efecto de constricción pupilar persistió después de que se completó la liberación del fármaco.

Tabla 5: Constricción pupilar y diámetro pupilar durante la duración del estudio por identificación del animal y ojo

Día	Animal/Ojo					
	2277 OI	2277 OD	1896 OI	1896 OD	4563 OI	4563 OD
3	completa	completa	completa	completa	completa	completa
7	completa	completa	completa	completa	completa	completa
14	completa	completa	completa	completa	completa	completa
28	< 1 mm	< 1 mm	< 1 mm	< 1 mm	< 1 mm	< 1 mm
42	completa	completa	completa	completa	completa	completa
56	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
70	1,5 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1,5 mm	1,5 mm

Día	Animal/Ojo					
	2277 OI	2277 OD	1896 OI	1896 OD	4563 OI	4563 OD
84	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
98	1 - 2 mm	1 - 2 mm	1 mm	1 mm	2 mm	2 mm
112	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
126	4 mm	5 mm	6 mm	5 mm	4 mm	6 mm
140	6 - 7 mm	6 - 7 mm	7 mm	7 mm	7 mm	7 mm

Tonometría: Las mediciones de PIO registradas durante la duración del estudio se muestran en la Tabla 6. El valor promedio de 11 mmHg registrado el día 28 concuerda bien con la PIO registrada en beagles glaucomatosos cuando se les administró una dosis recurrente una vez al día de gotas de travoprost al 0,0033 % (MacKay *et al.*, 2011) o en perros normales cuando se les administró una dosis recurrente una vez al día de travoprost al 0,004 % (Carvalho *et al.*, 2006). Dos de los tres perros (2277 y 1896) demostraron una PIO promedio de 12 mmHg el día 56. Estudios de beagles normotensos no tratados (n = 32 ojos) medidos con un TonoVet informaron una PIO promedio de 18,1 mmHg (Driscoll y Blizzard, 2016). La reducción de la PIO de 18 a 11 o 12 mmHg demuestra una respuesta farmacodinámica al travoprost administrado por OTX-TI en el modelo beagle. No se observa ninguna diferencia aparente en la PIO promedio el día 84 y después. Es importante señalar que esta falta de respuesta de la PIO puede deberse simplemente a la degradación de la porción de hidrogel del depósito, que puede haber influido en las concentraciones del fármaco en el HA necesarias para una reducción suficiente de la PIO.

Tabla 6: Resultados de la presión intraocular durante la duración del estudio por identificación del animal y ojo*

Día	Animal/Ojo						Promedio	Desviación estándar
	2277 OI	2277 OD	1896 OI	1896 OD	4563 OI	4563 OD		
28	11	12	9	9	13	12	11	2
56	12	12	10	14	19	16	14	3
84	16	14	17	14	15	14	15	1
112	15	15	15	17	14	15	15	1
140	16	18	13	15	15	11	15	2

* Todos los resultados de la tabla en mmHg

Concentración del fármaco en el HA: Se determinaron los niveles de travoprost y ácido libre de travoprost en el HA muestreado durante la duración del estudio en intervalos de 28 días y los resultados resumidos se enumeran en la Tabla 7 y se representan gráficamente en la figura 13. El ácido libre de travoprost en el HA es la forma principal del fármaco. La ausencia o las cantidades mínimas del éster de travoprost son consistentes con la bibliografía que muestra la conversión del éster a la forma ácida a partir de depósitos intracamerales de travoprost en dosis similares en beagles (Trevino *et al.*, 2014). El nivel de 4,3 ng/ml en el día 28 y 2,2 ng/ml en el día 56 en la CA es similar a la C_{max} del ácido libre de travoprost observada en estudios con gotas oftálmicas en humanos que se aproximan a 2 ng/ml (Faulkner *et al.*, 2010) y 3 ng/ml (Martínez-de-la-Casa *et al.*, 2012). El nivel luego disminuye a 1,4 ng/ml a los 84 días y continúa disminuyendo a 0 ng/ml al finalizar el estudio (día 140). Como se mencionó anteriormente, los resultados obtenidos a los 84 días y más son difíciles de correlacionar con la reducción de la PIO, ya que la porción de hidrogel del depósito se había degradado y estaba visualmente ausente durante ese período.

Tabla 7: Concentraciones de travoprost y ácido de travoprost en el humor acuoso durante la duración del estudio por la identificación del animal y el ojo*

Día	Forma	Animal/Ojo						Promedio	Desviación estándar
		2277 OI	2277 OD	1896 OI	1896 OD	4563 OI	4563 OD		
28	Ácido de travoprost	7,3	2,8	3,2	2,6	1,1	8,7	4,3	3,0
	Travoprost	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	N/A

Día	Forma	Animal/Ojo						Promedio	Desviación estándar
		2277 OI	2277 OD	1896 OI	1896 OD	4563 OI	4563 OD		
56	Ácido de travoprost	4,2	1,8	1,5	1,7	1,0	2,9	2,2	1,2
	Travoprost	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	N/A
84	Ácido de travoprost	3,6	1,1	1,3	1,6	0,6	0,3	1,4	1,2
	Travoprost	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	N/A
112	Ácido de travoprost	0,6	0,1	0,5	0,1	0,2	< LOQ	0,3	0,2
	Travoprost	< LOQ	< LOQ	0,1	< LOQ	< LOQ	0,3	0,2	0,1
140	Ácido de travoprost	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	N/A	N/A
	Travoprost	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	N/A	N/A

* Todos los resultados de la tabla en ng/ml

El límite de cuantificación (LOQ) es de 50 pg/mL

Exámenes oftálmicos: Los resultados del examen con lámpara de hendidura del segmento anterior durante la duración del estudio fueron normales, con las siguientes excepciones. La conjuntiva de 4563 OI y OD tuvo un resultado de 1 en cuanto a enrojecimiento/congestión. Se observó una pequeña zona de opacidad (resultado de 1) en la posición de las 11 en punto de la córnea de 2277 OI. Se desconoce la causa de la opacidad y la ubicación de la opacidad está lejos del lugar de inyección esperado. La opacidad desapareció en el momento posterior. No se observó ningún reflejo pupilar a la luz o se observó un reflejo pupilar lento de forma bilateral en todos los animales hasta el día 112. Se considera que este efecto sobre la constricción pupilar y el reflejo pupilar a la luz está directamente relacionado con el travoprost en los artículos de prueba. El travoprost es un potente agente miótico en los perros beagle (Hellberg *et al.*, 2001; Gelatt y MacKay, 2004) y la constricción pupilar es un resultado directo de la exposición al fármaco travoprost dentro del ojo. El efecto miótico del travoprost está ausente en los seres humanos. Debido a la constricción pupilar completa, no fue posible evaluar el cristalino con la lámpara de hendidura. Se observó un reflejo pupilar a la luz normal los días 126 y 140.

Ejemplo 5: Formación de artículos de prueba de liberación sostenida intracameral adicionales de travoprost y resultados en pruebas con animales

Se prepararon artículos de prueba preparados de manera similar a los Ejemplos 1 y 2, pero que contenían una formulación modificada según la Tabla 8 y que contenían una dosis de travoprost menor de 18 µg por depósito. La dimensión seca del depósito fue de 0,2 mm x 2,0 mm y la dimensión hidratada fue de 0,6 mm x 2,3 mm. Se administraron como depósitos secos mediante inyección intracameral en beagles en dos estudios: Estudio A: 6 ojos/3 beagles; Estudio B: 24 ojos/12 beagles.

Tabla 8: Composición del producto de los artículos de prueba y control utilizados en el estudio de toxicidad (base seca redondeada al µg más cercano)

Ingredientes	Artículo de prueba	
	Lote 03241603	
	Según la formulación (% en base seca)	Composición teórica (µg, en base seca)
Travoprost	18,5 %	21,9
8 brazos 15K PEG SAP	50,9 %	60,5
Poli(DL-lactida) 4A [†]	4,8 %	5,7
Poli(DL-lactida) 7A [†]	4,8 %	5,7
Poli(DL-lactida) 9A [†]	2,4 %	2,9
Poli(DL-lactida) 5,5 E [†]	12,0 %	14,3

Ingredientes	Artículo de prueba	
	Lote 03241603	
	Según la formulación (% en base seca)	Composición teórica (µg, en base seca)
Fosfato de sodio dibásico	1,8 %	2,1
Fosfato de sodio monobásico	1,0 %	1,2
NHS-Fluoresceína	0,3 %	0,4
Acetato de trilisina	3,5 %	4,2
Peso medio de depósito*	N/A	119 µg
¹ El valor numérico designa la viscosidad inherente (IV) objetivo del polímero en cloroformo.		

El estudio A demuestra una reducción de la PIO de 6,2 mmHg en 6 ojos durante 2 meses, como se observa en la Tabla 9 a continuación, y luego un aumento de la PIO en el mes 3 y un retorno a la línea base en el mes 4. La porción de hidrogel del depósito está presente visualmente en el ángulo en todos los animales a los 3 meses y ausente en 5 de los 6 ojos a los 4 meses.

Tabla 9

N.º de grupo / Inyección	PIO (mmHg)	Número de semana o mes en relación con la fecha de inicio						
		Dosis previa	Semana 1	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5
Grupo 1 / Inyección intracameral	Media	17,7	8,5	11,8	11,5	16,3	18,3	17,8
	DESVST	3,4	1,5	1,6	1,8	1,0	2,7	2,1
	N	6	6	6	6	6	6	6
DESVST = Desviación estándar								
N = Número de animales								

El estudio B demuestra una reducción promedio de la PIO de 8, 6 y 7 mmHg en 24 ojos durante 1, 2 y 3 meses, respectivamente, como se observa en la Tabla 10 a continuación. La constricción pupilar es evidente en todos los ojos y demuestra una reducción en el diámetro promedio a lo largo de 4 meses, como se ve en la Tabla 11, lo que indica la actividad farmacodinámica del travoprost liberado.

Tabla 10

N.º grupo	N.º animal	Número de mes con relación a la fecha de inicio									
		Dosis previa		Mes 1		Mes 2		Mes 3		Mes 4	
		D	I	D	I	D	I	D	I	D	I
Grupo 1	1101	21	16	7	8	11	11	12	11	10	17
	1102	25	21	7	11	13	14	12	13	16	17
	1103	17	17	10	13	13	11	11	12	11	12
Grupo 2	2101	19	12	10	11	12	13	14	13	13	13
	2102	21	17	11	11	14	10	12	12	15	14
	2103	22	20	12	14	13	11	12	11	15	14
Grupo 3	3101	19	21	11	10	13	10	13	12	15	15
	3102	21	19	10	13	12	14	11	11	17	17
	3003	18	17	10	10	11	10	12	13	13	15
Grupo 4	4101	21	19	11	11	12	10	11	10	14	12
	4102	21	16	12	14	12	17	12	15	13	13
	4004	21	19	12	9	14	11	14	12	17	14
Media		19		11		13		12		15	
DESVST		3		2		2		1		2	

D = Ojo derecho

I = Ojo izquierdo

DESVST = Desviación estándar

Tabla 11

N.º grupo	N.º animal	Número de mes con relación a la fecha de inicio									
		Dosis previa		Mes 1		Mes 2		Mes 3		Mes 4	
		D	I	D	I	D	I	D	I	D	I
Grupo 1	1101	8	8	1	1	1	1	1	1	3	2
	1102	7	7	3	2	<1	1	1	1	2	2
	1103	8	8	3	2	5	5	4	5	4	3
Grupo 2	2101	7	7	1	1	<1	1	1	1	1	1
	2102	9	9	2	2	3	4	2	3	4	4
	2103	9	8	1	1	3	2	2	2	2	2
Grupo 3	3101	7	8	3	2	3	4	3	3	2	3
	3102	8	7	5	3	5	3	4	3	1,5	1,5
	3003	9	9	4	3	3	3	3	3	1	1
Grupo 4	4101	8	8	3	3	3	3	3	3	1	1,5
	4102	9	8	4	<1	3	2	3	2	1	2
	4004	9	9	3	2	4	2	3	3	4	2
Media		8		2		3		3		2	
DESVST		1		1		1		1		1	

D = Ojo derecho

I = Ojo izquierdo

DESVST = Desviación estándar

5 Ejemplo 6: Formación de artículos de prueba de liberación sostenida intracameral adicionales de travoprost y resultados en pruebas con animales

Se prepararon los artículos de prueba preparados de manera similar al Ejemplo 5, pero que contenían dosis modificadas de travoprost de 14 (baja) y 41 (alta) µg por depósito controlando la cantidad de micropartículas presentes. La dimensión seca del depósito fue de 0,2 mm x 2,0 mm para la dosis baja y de 0,3 mm x 2,0 mm para la dosis alta. La dimensión hidratada fue de 0,5 mm x 2,3 mm para la dosis baja y de 0,5 mm x 2,3 mm para la dosis alta. Se administraron como depósitos secos mediante inyección intracameral en beagles: 24 ojos/12 beagles. El estudio demuestra una reducción promedio de la PIO para la dosis baja de 6, 5, 6 y 6 mmHg y la dosis alta de 6, 8, 7 y 9 mmHg en 12 ojos cada uno durante 1, 2, 3 y 4 meses, respectivamente, como se ve en la Tabla 12 a continuación. La constricción pupilar concomitante es evidente en todos los ojos y demuestra una reducción en el diámetro promedio durante 4 meses para ambas dosis, lo que indica actividad farmacodinámica del travoprost liberado y luego un retorno

aproximado al valor inicial en el diámetro pupilar a los 6 meses. La duración de 4 meses de la actividad farmacodinámica coincide con los 4 meses de liberación de travoprost demostrados en la prueba *in vitro*, como se ve en la figura 14, utilizando un medio de disolución de 1X PBS, 0,5 % de aceite de ricino hidrogenado polioxil 40, 0,01 % de fluoruro de sodio, pH 7,2 - 7,4 realizado a 37 °C. La cantidad aproximada de liberación de travoprost por día para la formulación de dosis baja es de 0,1 µg/día y para la formulación de dosis alta es de 0,3 µg/día. La duración de las respuestas farmacodinámicas de reducción de la PIO y constricción pupilar se correlaciona con la duración de la liberación *in vitro* para las formulaciones de dosis baja y de dosis alta. Las figuras 15A-15D son un fotomontaje de los depósitos del Ejemplo 6 que muestra un depósito en el mismo ojo de beagle a los 3 días y 4 meses después de la colocación, y luego la ausencia del depósito a los 4,5 meses.

Tabla 12

Punto temporal	PIO				Diámetro de la pupila			
	Baja (14 µg)		Alta (41 µg)		Baja (14 µg)		Alta (41 µg)	
	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
Línea base	20	2	21	3	6	1	7	1
1 mes	14	5	15	3	2	1	2	1
2 meses	15	3	13	2	2	1	1	1
3 meses	14	4	14	2	2	1	1	0
3,5 meses	15	3	14	2	2	1	1	1
4 meses	14	1	13	2	2	1	2	1
4,5 meses	16	3	16	3	3	2	2	1
5 meses	16	4	14	2	5	2	3	1
5,5 meses	16	3	18	4	5	0	5	0
6 meses	16	3	20	4	6	1	5	1
6,5 meses	16	2	16	2	6	0	5	1
7 meses	18	1	16	3	6	0	5	1

Ejemplo 7: Formación de depósitos de liberación sostenida de travoprost y resultados de pruebas *in vitro* en condiciones "estáticas" y "agitadas".

Los artículos de prueba se prepararon como en el Ejemplo 1, pero contenían una dosis elevada de travoprost de 328 µg por depósito y se prepararon depósitos de mayor tamaño. La dimensión seca de los depósitos fue de 0,65 mm x 3,2 mm. Las dimensiones hidratadas fueron de 1,8 mm x 2,6 mm. La cantidad de travoprost se controló mediante la cantidad total de micropartículas utilizadas. Las partículas se mezclaron bien dentro del hidrogel.

Los inventores realizaron pruebas de liberación *in vitro* en condiciones de inmersión utilizando condiciones fisiológicas simuladas (PBS, pH 7,4 a 37 °C) con la excepción de la adición de 0,5 % de aceite de ricino hidrogenado polioxil 40 al medio de disolución para aumentar la solubilidad del travoprost. Este surfactante se utiliza como agente potenciador de la solubilidad en las gotas oftálmicas TRAVATAN. El estudio evaluó la liberación de un fármaco de muestra (travoprost) encapsulado en micropartículas y posteriormente enredado dentro de una red de hidrogel de PEG y luego sometido a una disolución agitada "estática" sin mezclar frente a una disolución agitada "continua" en la que se utiliza agitación, es decir, agitación o removido, para mantener las partículas o depósitos suspendidos o en movimiento libre en el medio de liberación con una sedimentación mínima en el recipiente de liberación. Se utilizó una condición de 175 RPM en un volumen de 50 mL. En este momento, se está llevando a cabo una disolución *in vitro* en condiciones de agitación durante períodos más prolongados. Los perfiles de liberación comparados, que se observan en la figura 16, se superponen durante la duración de la prueba, en el día 42, lo que indica que el hidrogel protege las micropartículas de las fuerzas convectivas de agitación durante la disolución. El volumen de inmersión fue de 50 ml. Los expertos pueden determinar fácilmente una condición de inmersión adecuada, que es un término técnico que se refiere a tener un exceso de solución que sea lo suficientemente grande como para que la acumulación de agentes liberados en la solución esencialmente no afecte a la liberación continua de agentes. La composición del PBS fue 1 parte de concentrado líquido de PBS OMNIPUR® 10X (MilliporeSigma) diluido con 9 partes de agua desionizada y luego filtrado estéril a través de un filtro de 0,2 micras.

CONJUNTIVA:

A. ENROJECIMIENTO/CONGESTIÓN (se refiere a las conjuntivas palpebrales y bulbares, excluyendo la córnea y el iris):

0	Vasos normales. Puede aparecer de un color pálido a rosa rojizo sin inyección perilímbica (excepto en las posiciones de las 12 y las 6 en punto) observándose fácilmente los vasos de las conjuntivas palpebral y bulbar.
1	Vasos definitivamente inyectados por encima de lo normal. Un color rojizo enrojecido predominantemente confinado a las conjuntivas palpebrales con algo de inyección perilímbica pero principalmente confinada a las partes inferior y superior del ojo desde las posiciones de las 4 y las 7 y de las 11 a la 1 en punto.
2*†	Rojo carmesí más difuso, más profundo, los vasos individuales no son fácilmente discernibles. Color rojo brillante de la conjuntiva palpebral con inyección perilímbar acompañante que cubre al menos el 75 % de la circunferencia de la región perilímbica.
3*†	Rojo carnososo difuso. Color rojo oscuro carnososo con congestión de la conjuntiva bulbar y palpebral junto con inyección perilímbica pronunciada y presencia de petequias en la conjuntiva. Las petequias predominan generalmente a lo largo de la membrana nictitante y la conjuntiva palpebral superior.

5

B. QUEMOSIS:

0	Normal. Sin hinchazón del tejido conjuntival.
1	Cualquier hinchazón por encima de lo normal (incluye la membrana nictitante). Hinchazón por encima de lo normal sin eversión de los párpados (se puede determinar fácilmente observando que los párpados superior e inferior están posicionados como en el ojo normal); la hinchazón generalmente comienza en el fondo de saco inferior cerca del canto interno, que requiere un examen con lámpara de hendidura.
2*†	Hinchazón evidente con eversión parcial de los párpados. Hinchazón con desalineación de la aproximación normal de los párpados superior e inferior; principalmente confinada al párpado superior, de modo que en las etapas iniciales la desaproximación de los párpados comienza con la eversión parcial del párpado superior. En esta etapa, la hinchazón se limita generalmente al párpado superior, aunque existe en el fondo de saco inferior. Hinchazón con párpados medio cerrados.
3*†	Hinchazón definida con eversión parcial de los párpados superior e inferior esencialmente equivalentes. Esto se puede determinar fácilmente observando al animal de frente y notando la posición de los párpados. Si los márgenes oculares no se juntan, se ha producido una eversión.
4*†	Hinchazón con los párpados medio cerrados o completamente cerrados. La eversión del párpado superior es pronunciada y la del párpado inferior es menos pronunciada. Es difícil retraer los párpados y observar la región perilímbica.

10

C. SECRECIÓN:

0	Normal o inexistente.
1	Cualquier cantidad diferente de lo normal (no incluye pequeñas cantidades observadas en el canto interno de animales normales). Secreción por encima de lo normal y presente en la parte interna del ojo, pero no en los párpados ni en los pelos de los párpados. Se puede ignorar la pequeña cantidad que se encuentra en el canto interno y externo si no se ha eliminado antes de comenzar el estudio.
2	Secreción con humectación de los párpados y de los pelos adyacentes a los párpados. La secreción es abundante, se observa fácilmente y se ha acumulado en los párpados alrededor de los pelos de los párpados.

3	Secreción con humectación de los párpados y los pelos, y de una zona considerable alrededor del ojo. La secreción ha estado fluyendo sobre los párpados de manera que humedece considerablemente los pelos de la piel alrededor del ojo.
---	--

CÓRNEA:

5 A. OPACIDAD: grado de densidad (se toman para la lectura las áreas más densas):

0	Sin ulceración ni opacidad. Córnea normal. Con la lámpara de hendidura, aparece con una línea gris brillante en la superficie endotelial y una línea gris brillante en la superficie endotelial con un aspecto gris marmóreo del estroma.
1*	Áreas de opacidad dispersas o difusas (excepto un ligero opacamiento del brillo normal), detalles del iris claramente visibles. Alguna pérdida de transparencia. Solo la mitad anterior del estroma está afectada, como se observa con una sección óptica de la lámpara de hendidura. Las estructuras subyacentes son claramente visibles con iluminación difusa, aunque puede apreciarse fácilmente cierta opacidad con iluminación difusa.
2*†	Áreas translúcidas fácilmente discernibles, detalles del iris ligeramente oscurecidos. Pérdida moderada de transparencia. Además de afectar al estroma anterior, la opacidad se extiende hasta el endotelio. El estroma ha perdido su aspecto marmóreo y es homogéneamente blanco. Con iluminación difusa, las estructuras subyacentes son claramente visibles.
3*†	Áreas opalescentes/nacaradas, sin detalles del iris visibles, tamaño de la pupila apenas perceptible. Afectación de todo el espesor del estroma. Con sección óptica, la superficie endotelial aún es visible. Sin embargo, con iluminación difusa, las estructuras subyacentes apenas son visibles (hasta el punto de que el observador aún puede calificar el destello acuoso, la iritis, observar la respuesta pupilar y notar los cambios lenticulares).
4*†	Córnea opaca, iris no discernible a través de la opacidad. Afectación de todo el espesor del estroma. Con la sección óptica, no se puede visualizar claramente el endotelio. Con iluminación difusa, no se pueden ver las estructuras subyacentes. La opacidad elimina la capacidad de evaluar y calificar el destello acuoso, la iritis, los cambios lenticulares y la respuesta pupilar.

10 B. ZONAS DE LA CÓRNEA AFECTADAS:

0	Córnea normal sin área de opacidad.
1	Un cuarto (o menos), pero no cero.
2	Mayor de un cuarto, pero menor de la mitad.
3*	Mayor de la mitad, pero menor de tres cuartos.
4*	Mayor de tres cuartos, hasta toda el área.

15 C. TINCIÓN CON FLUORESCÉINA:

0	Ausencia de tinción con fluoresceína.
1	Ligera tinción con fluoresceína confinada a un foco pequeño. Con iluminación difusa, las estructuras subyacentes son fácilmente visibles. El contorno del margen papilar es como si no hubiera tinción con fluoresceína.
2	Tinción moderada con fluoresceína confinada a un foco pequeño. Con iluminación difusa, las estructuras subyacentes son claramente visibles, aunque hay cierta pérdida de detalle.
3	Marcada tinción con fluoresceína. La tinción puede afectar una porción más grande de la córnea. Con iluminación difusa, las estructuras subyacentes son apenas visibles, pero no están completamente borradas.
4	Tinción con fluoresceína extrema. Con iluminación difusa, las estructuras subyacentes no pueden observarse.

20 D. PANNUS CORNEAL:

0	No hay pannus
1	Hay vascularización pero los vasos no han invadido toda la circunferencia corneal. Cuando ha ocurrido invasión localizada de vasos, no han penetrado más allá de 2 mm.
2	Los vasos han invadido 2 mm o más alrededor de toda la circunferencia corneal.

5 **IRIS:****A. VALORES:**

0	Iris normal sin hiperemia de los vasos del iris. Ocasionalmente, alrededor de la posición de las 12:00 a la 1:00 cerca del borde pupilar y en la posición de las 6:00 y las 7:00 cerca del borde pupilar, hay una pequeña área de alrededor de 1-3 mm de diámetro en la que los vasos secundarios y terciarios están ligeramente hiperémicos.
1*†	Pliegues por encima de lo normal, congestión, hinchazón, inyección circuncorneal (cualquiera o todos estos o una combinación de cualquiera de ellos), iris que aún reacciona a la luz (la reacción lenta es positiva). Inyección mínima de vasos secundarios pero no terciarios. Generalmente es uniforme, pero puede ser de mayor intensidad en la posición de la 1:00 o las 6:00, los vasos terciarios deben estar sustancialmente hiperémicos.
2*†	No hay reacción a la luz, hemorragia, destrucción macroscópica (cualquiera o todas estas). Inyección mínima de los vasos terciarios e inyección mínima a moderada de los vasos secundarios.
3*†	Inyección moderada de los vasos secundarios y terciarios con leve hinchazón del estroma del iris (esto le da a la superficie del iris una apariencia ligeramente rugosa que generalmente es más prominente cerca de las posiciones de las 3:00 y las 9:00).
4*†	Inyección marcada de los vasos secundarios y terciarios con hinchazón marcada del estroma del iris. El iris se ve rugoso; puede estar acompañado de hemorragia (hiperemia) en la cámara anterior.

10

FLARE ACUOSO:

0	Ausencia de haz de luz visible en la cámara anterior (sin efecto Tyndall).
1	El efecto Tyndall es apenas perceptible. La intensidad del haz de luz en la cámara anterior es menor que la densidad del haz de hendidura cuando pasa a través del cristalino.
2	El efecto Tyndall en la cámara anterior es fácilmente perceptible y tiene la misma intensidad que la densidad del haz de hendidura que atraviesa el cristalino.
3	El efecto Tyndall en la cámara anterior es fácilmente perceptible; su intensidad es mayor que la intensidad del haz de hendidura que atraviesa el cristalino.

15

REFLEJO PUPILAR A LA LUZ:

0	Reflejo pupilar a la luz normal
1	Reflejo pupilar a la luz lento
2	Sin reflejo pupilar a la luz

20

CRISTALINO:

El cristalino debe evaluarse de forma rutinaria durante las evaluaciones oculares y calificarse como 0 normal o 1 anormal.

25

0	Normal
---	--------

1	Se debe describir la presencia de opacidades lenticulares y anotar la ubicación como se define a continuación:
	Cápsula anterior
	Subcápsula anterior
	Cortical anterior
	Nuclear
	Cortical posterior
	Subcápsula posterior
	Cápsula posterior
	* = Reacción positiva (ISO)
	† = Reacción positiva (OECD)

Los subtítulos se proporcionan en este documento para conveniencia del lector y no son limitativos con respecto a la invención sustantiva. Las realizaciones no explícitamente expuestas en este documento pueden formarse mezclando y combinando características de las diversas realizaciones expuestas en este documento según lo indicado por consideraciones de operatividad con el alcance definido por las reivindicaciones.

REFERENCIAS

Edward O. MacKay, Marsha McLaughlin, Caryn E. Plummer, Anna Ben-Shlomo y Kirk N. Gelatt, Dose response for travoprost in glaucomatous beagles. *Veterinary Ophthalmology* (2011) 1-5.

Alex B. Carvalho, José L. Laus, Vital P. Costa, Paulo S. M. Barros y Patricia R. Silveira, Effects of travoprost 0.004% compared with latanoprost 0.005% on the intraocular pressure of normal dogs. *Veterinary Ophthalmology* (2006) 9, 2, 121-125.

Hughes PM, Robinson MR, Burke JA, Intraocular pressure reduction with intracameral bimatoprost implants. *Solicitud de patente de EE. UU.* 2010/0278898 A1, 4 de noviembre de 2010.

Kirk N. Gelatt y Edward O. MacKay, Effect of different dose schedules of travoprost on intraocular pressure and pupil size in the glaucomatous Beagle *Veterinary Ophthalmology* (2004) 7, 1, 53-57.

Ann R. Strom, Dennis E. Cortes, Carol A. Rasmussen, Sara M. Thomasy, Kim McIntyre, Shwu-Fei Lee, Philip H. Kass, Mark J. Mannis y Christopher J. Murphy, In vivo evaluation of the cornea and conjunctiva of the normal laboratory beagle using time- and Fourier-domain optical coherence tomography and ultrasound pachymetry. *Veterinary Ophthalmology* (2016) 19, 1, 50-56.

Leo Trevino; Tomas Navratil; RiLee Robeson; Andres Garcia; Janet Tully; Michael Hunter; Daria Stoltz; Benjamin Maynor; Brian C Gilger; Benjamin R Yerxa, Intracameral Conversion of Travoprost to Travoprost Acid in the Normotensive Beagle Dog Model. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, abril de 2014, Vol. 55, 5270.

Robert Faulkner, Najam A. Sharif, Susan Orr, Kenneth Sall, Harvey DuBiner, Jess T. Whitson, Marlene Moster, E. Randy Craven, Michael Curtis, Cynthia Pailliotet, Kimberly Martens y David Dahlin, Aqueous humor concentrations of bimatoprost free acid, bimatoprost and travoprost free acid in cataract surgical patients administered multiple topical ocular doses of LUMIGAN or TRAVATAN. *J Ocul Pharmacol Ther.* abril de 2010; 26(2):147-56.

JM Martinez-de-la-Casa, O Rayward, F Saenz-Frances, E Santos-Bueso, C Mendez-Hernandez, R Herrero-Vanrell, J Garcia-Feijoo y J Garcia-Sanchez, Effects of corneal thickness on the intraocular penetration of travoprost 0.004%. *Eye* (2012) 26, 972-975.

Gelatt, Kirk N. y Edward O. Mackay. "Effect of Different Dose Schedules of Travoprost on Intraocular Pressure and Pupil Size in the Glaucomatous Beagle." *Veterinary Ophthalmology* 7.1 (2004):53-57.

Hellberg, Mark R., Verney L. Sallee, Marsha A. McLaughlin, Naj A. Sharif, Louis Desantis, Tom R. Dean y Paul W. Zinke. "Preclinical Efficacy of Travoprost, a Potent and Selective FP Prostaglandin Receptor Agonist." *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* 17.5 (2001): 421-32.

Driscoll A y Blizzard C, Toxicity and Pharmacokinetics of Sustained-Release Dexamethasone in Beagle Dogs. Adv Ther. enero de 2016; 33(1):58-67.

5 Arthur Driscoll; Charles D Blizzard; Michael Bassett; Monica OConnor; Steve Takach; Doug Molla; Peter K Jarrett; Amarpreet Sawhney. 90 Day Canine Toxicity Study Demonstrating the Safety of a Sustained Release Travoprost Punctum Plug. Investigative Ophthalmology & Visual Science, abril de 2014, Vol.55, 4885.

10 D'Souza, Susan, Jabar A. Faraj y Patrick P. DeLuca. "Unstirred Water Layer Effects on Biodegradable Microspheres." Advances in Pharmaceutics 2015 (2015).

D'Souza, Susan S. y Patrick P. DeLuca. "Development of a dialysis in vitro release method for biodegradable microspheres." Aaps Pharmscitech 6.2 (2005):E323-E328

REIVINDICACIONES

1. Composición de depósito que comprende un xerogel con partículas hidrolíticamente degradables incorporadas, en la que una matriz del xerogel tiene un peso seco que es al menos el 30 % de una suma del peso seco de la matriz de xerogel y un peso seco de las partículas hidrolíticamente degradables incorporadas, siendo el xerogel un hidrogel biocompatible después de la exposición al fluido intraocular, siendo el hidrogel hidrolíticamente degradable, en la que las partículas hidrolíticamente degradables incorporadas comprenden un agente terapéutico y un material polimérico hidrolíticamente degradable, en la que las partículas hidrolíticamente degradables incorporadas se degradan hidrolíticamente en un fluido fisiológico para proporcionar una liberación controlada del agente terapéutico en la que un índice de retención de residuos de depósito (IRR) es menor que 1,0, siendo IRR un tiempo hasta la disolución completa del depósito dividido por un tiempo hasta la liberación del 100 % del agente terapéutico para su uso en el tratamiento de una enfermedad ocular colocando la composición de depósito en una cámara anterior de un ojo.
2. Composición de depósito para uso según la reivindicación 1, en la que la enfermedad ocular comprende glaucoma, hipertensión ocular, hifema, degeneración macular, edema macular cistoide (EMC), edema macular diabético (EMD), uveítis posterior, retinopatía diabética, presbicia, cataratas, oclusión de la vena retiniana o uveítis.
3. Composición de depósito para uso según las reivindicaciones 1 o 2, en la que el agente terapéutico comprende travoprost, un análogo de prostaglandina, un análogo de prostaglandina poco soluble, un agente antiangiogénico, un agente reductor de la presión intraocular, un antiinflamatorio, un antiinfeccioso, un agente midriático, un agente anticanceroso, anti-VEGF, bloqueador VEGFR1, bloqueador VEGFR2, bloqueador VEGFR3, anti-PDGF, anti-PDGF-R bloqueador PDGFR β , antiangiogénesis, sunitinib, E7080, takeda-6d, tivozanib, regorafenib, sorafenib, pazopanib, axitinib, nintedanib, cediranib, vatalanib, motesanib, macrólidos, sirolimus, everolimus, un inhibidor de la tirosina quinasa, imatinib, gefitinib, toceranib, erlotinib, lapatinib, nilotinib, bosutinib, neratinib, lapatinib, vatalanib, un esteroide, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, un antibiótico, un analgésico, dexametasona, moxifloxacina, nepafenac, un macrólido, rapamicina, sirolimus, tacrolimus, ácido lipoico y derivados, o esteroides, oxisteroides y compuestos relacionados.
4. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que una matriz del hidrogel se forma mediante la reticulación covalente de uno o más precursores de polietilenglicol de múltiples brazos que comprenden enlaces hidrolíticamente degradables en cada uno de los múltiples brazos, de modo que los productos de hidrólisis del hidrogel no son tóxicos y la matriz formada por los precursores de polietilenglicol se degrada hidrolíticamente para ser moléculas de polietilenglicol de múltiples brazos con brazos que terminan en grupos terminales hidroxilo o carboxilo, en la que el hidrogel tiene un hinchamiento bajo, como se puede medir por el hecho de que el hidrogel tiene un peso que no aumenta más de aproximadamente el 50 % tras la exposición a una solución fisiológica durante veinticuatro horas en relación con el peso del hidrogel en el momento de la formación, y en la que el material polimérico hidrolíticamente degradable comprende ácido poliláctico (PLA).
5. Composición de depósito para uso según la reivindicación 4, en la que al menos uno de los precursores de polietilenglicol de múltiples brazos tiene un peso molecular que no es mayor que 50 kDa (Mn) y un número de los múltiples brazos es al menos cuatro.
6. Depósito para uso según la reivindicación 5, en el que el xerogel y/o el al menos un precursor de polietilenglicol de múltiples brazos se esterilizan mediante irradiación.
7. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que las partículas hidrolíticamente degradables incorporadas y/o la composición de depósito se esterilizan mediante irradiación.
8. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la composición de depósito tiene un tamaño para su colocación en la cámara anterior ocular utilizando una aguja de calibre 25 o menor.
9. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la liberación controlada del agente tiene lugar en un período de tiempo comprendido entre 10 días y 2 años.
10. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que el hidrogel se forma mediante la reticulación covalente de al menos un precursor hidrófilo para formar el hidrogel, en la que el al menos un precursor hidrófilo comprende un precursor de propilenglicol que tiene grupos azelato de succinimidilo (SAZ) o grupos glutarato de succinimidilo (SG).
11. Composición de depósito para uso según la reivindicación 10, en la que el precursor hidrófilo comprende una pluralidad de brazos que tienen cada uno de ellos de 500 a 10.000 Daltons (Mn).
12. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que las partículas degradables hidrolíticamente incrustadas tienen diámetros de entre 1 micra y 55 micras.

13. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que el material polimérico degradable hidrolíticamente comprende uno o más de ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA) y un copolímero de PLA y PGA.

5 14. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en la que el depósito tiene un volumen de entre 0,1 y 1000 μl , o en la que el depósito es una varilla.

15. Composición de depósito para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, que cuando se hidrata con un contenido de agua de equilibrio tiene un diámetro de menos de 1 mm y una longitud de no más de 2 mm.

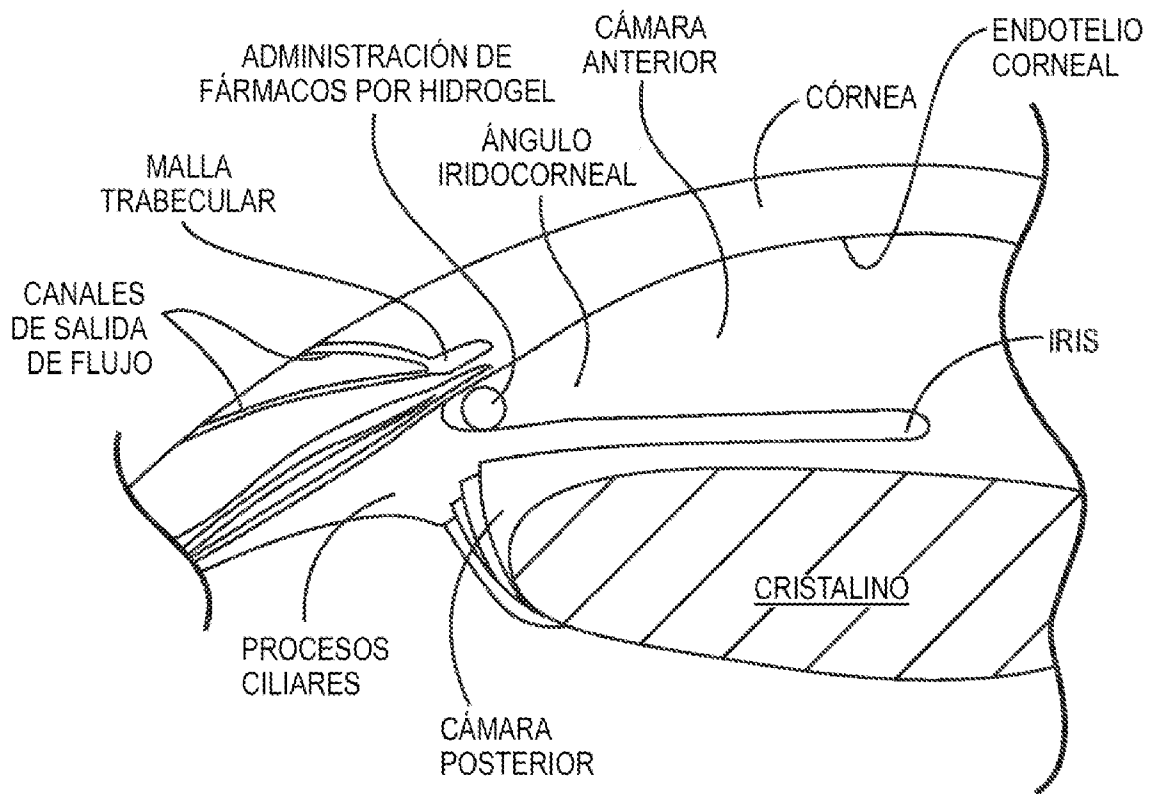


FIG. 1A

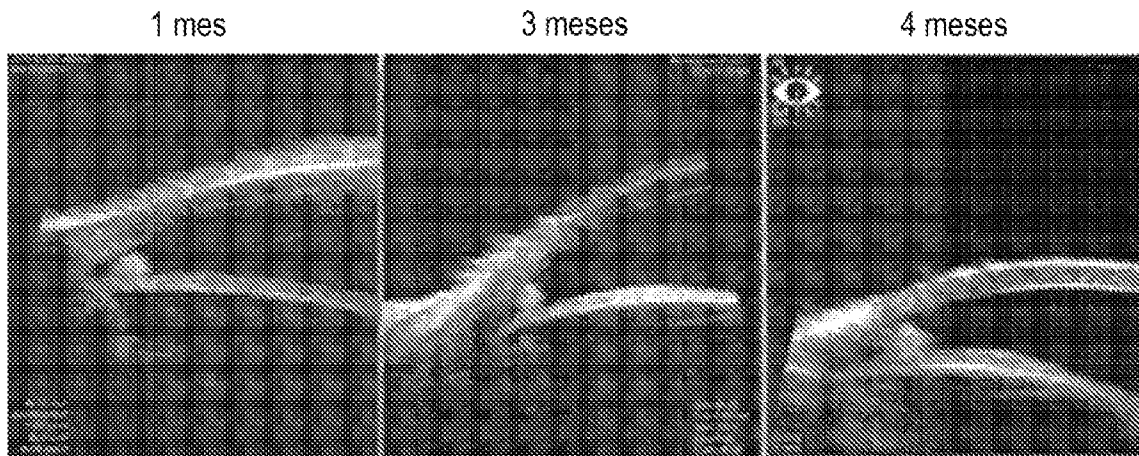


FIG. 1B

FIG. 1C

FIG. 1D

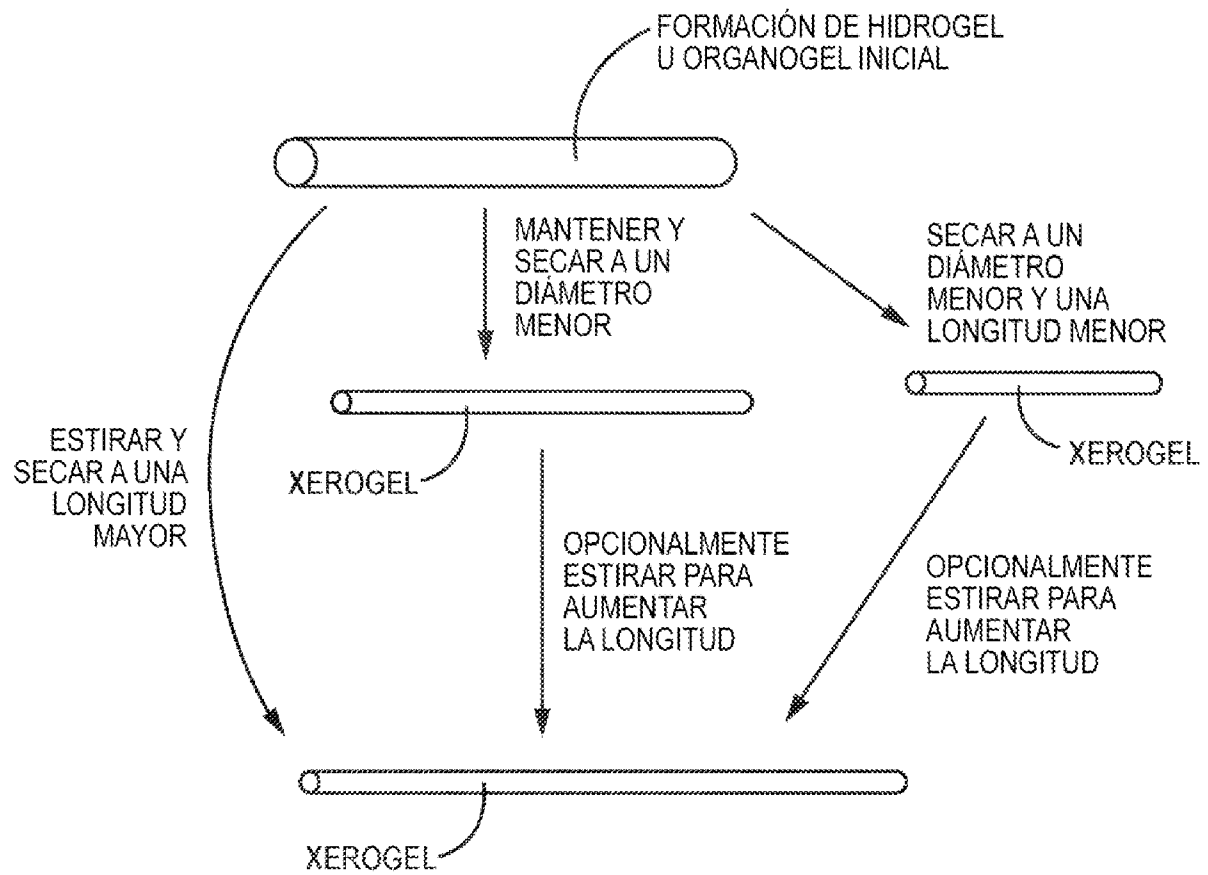


FIG. 2

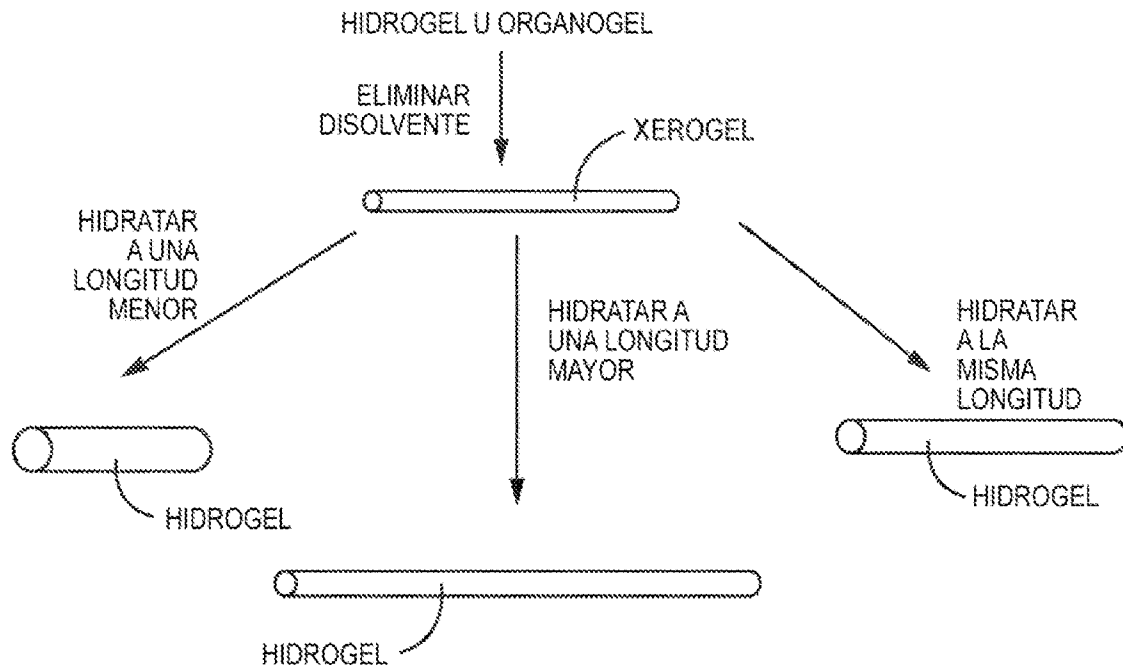


FIG. 3

Proceso de emulsión única para fabricar micropartículas

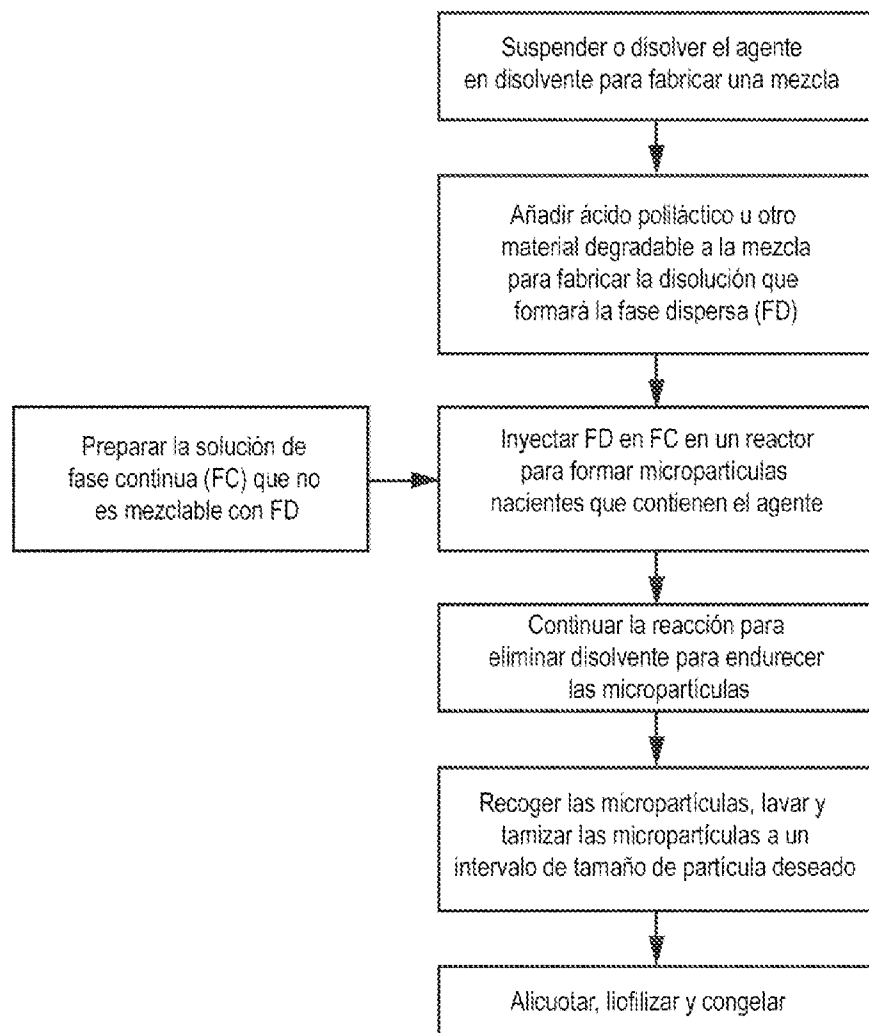


FIG. 4

Formación de hidrogel con molde

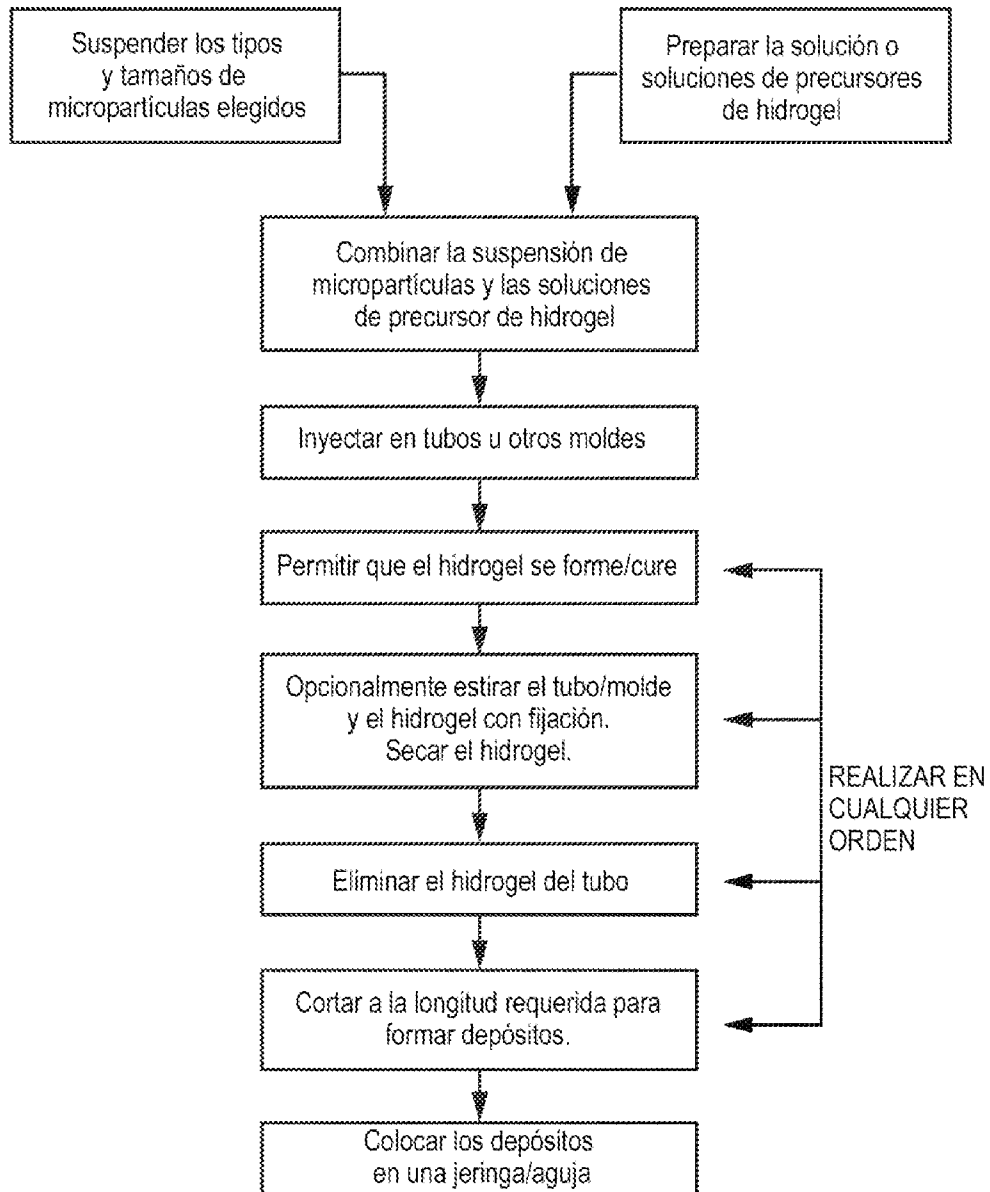


FIG. 5

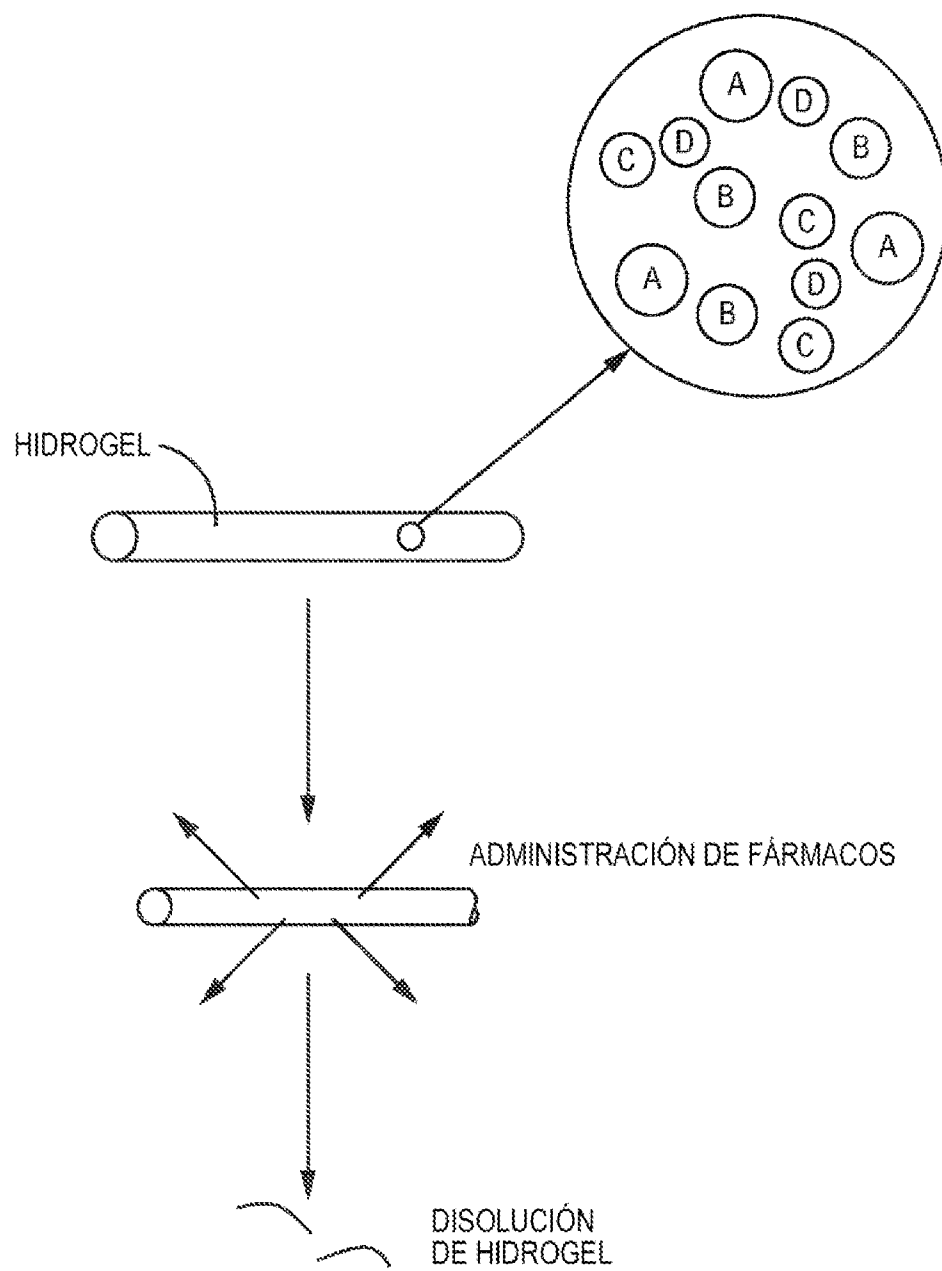


FIG. 6

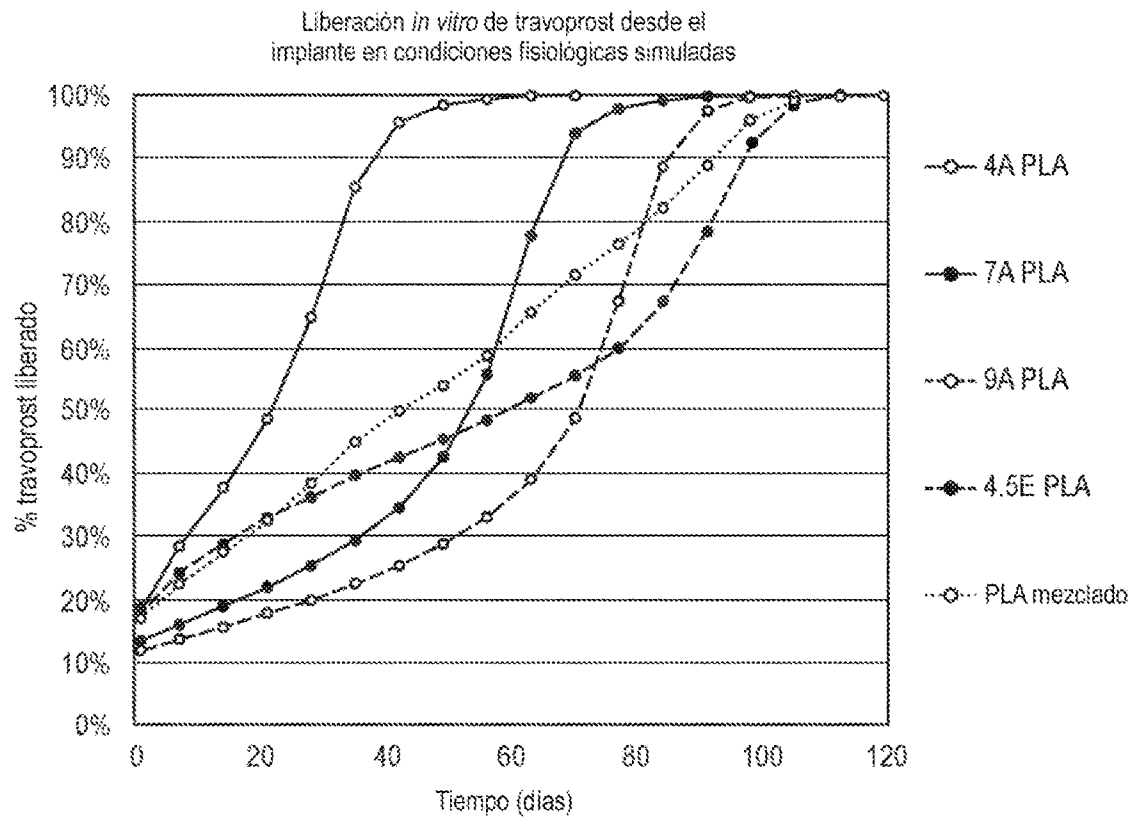
**FIG. 7**



FIG. 8A

FIG. 8B

FIG. 8C

FIG. 8D

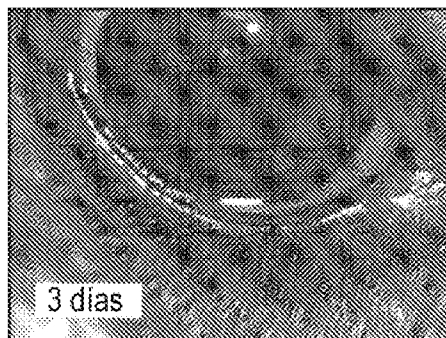


FIG. 9

Día 0

Día 3

Día 7



FIG. 10A

FIG. 10B

FIG. 10C

Día 28

Día 70

Día 140

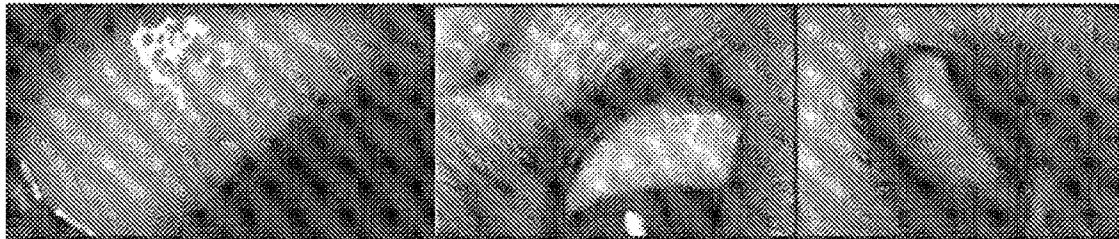


FIG. 10D

FIG. 10E

FIG. 10F

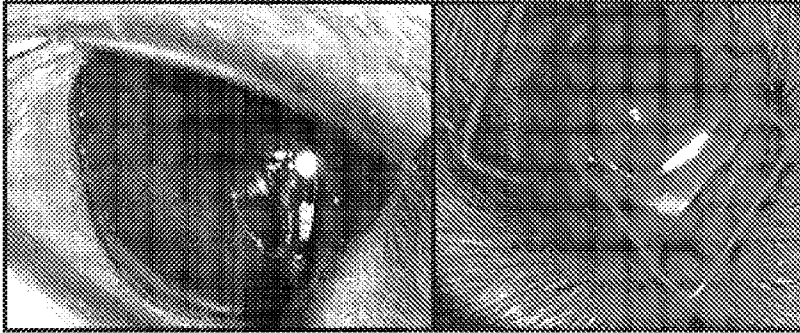


FIG. 11A

FIG. 11B

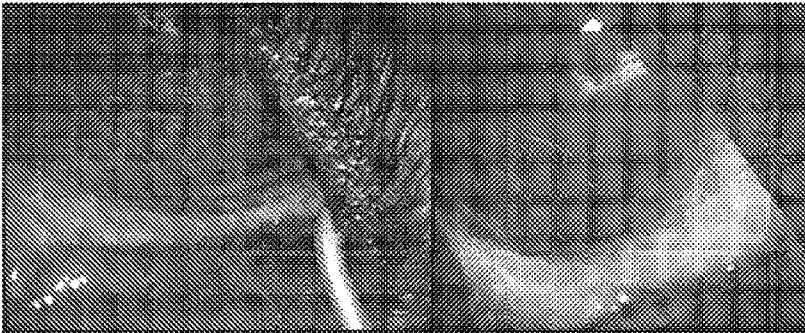


FIG. 11C

FIG. 11D

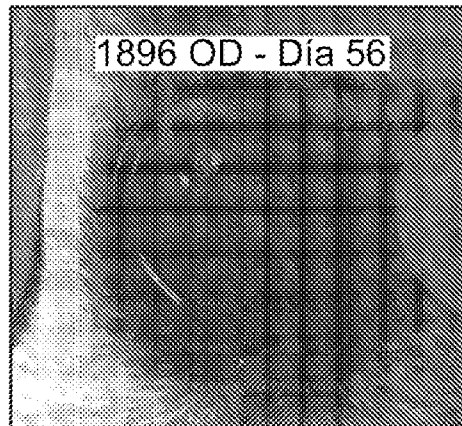


FIG. 12

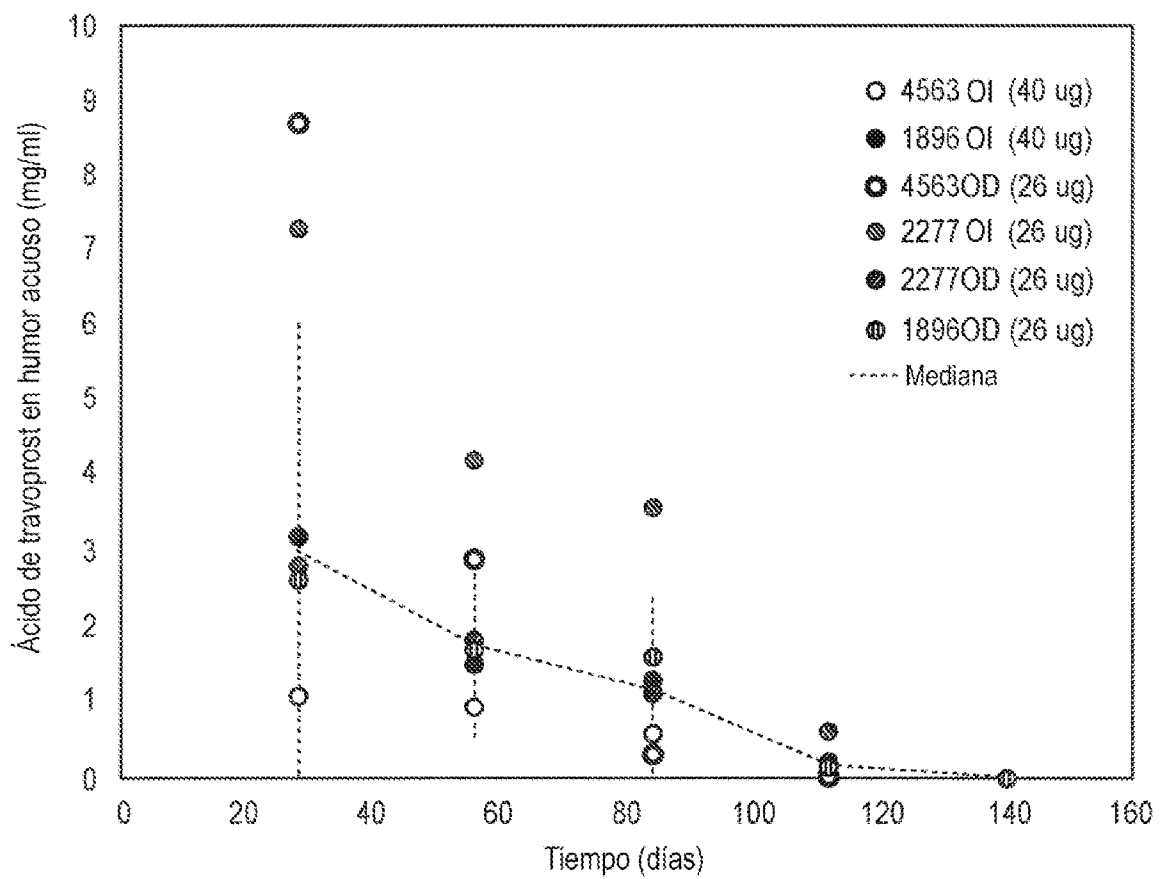


FIG. 13

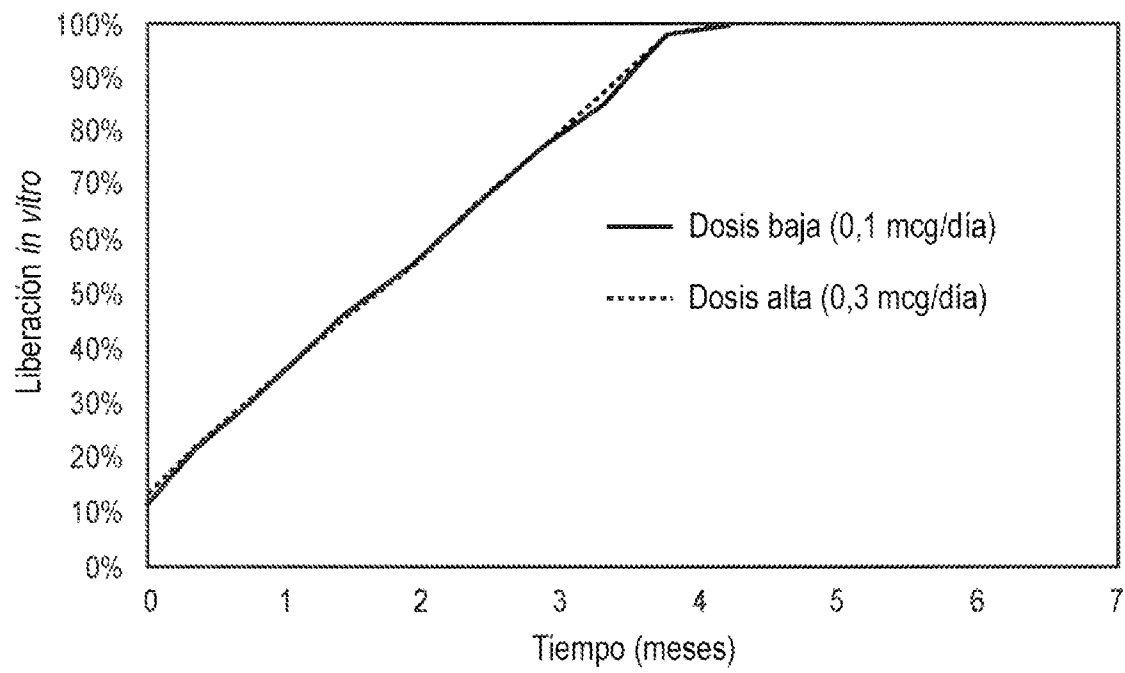


FIG. 14

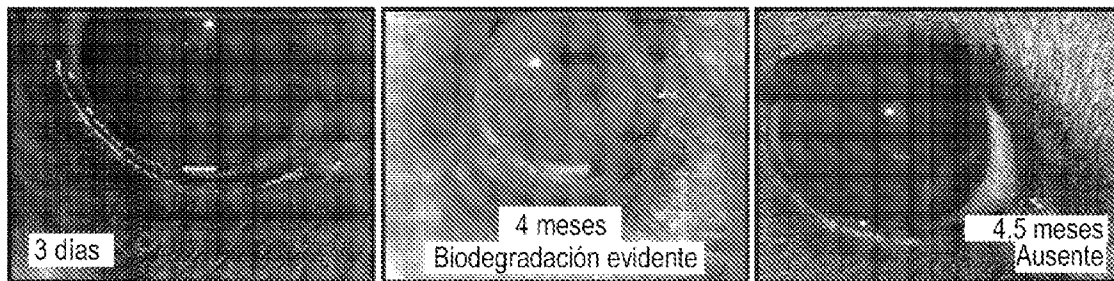


FIG. 15A

FIG. 15B

FIG. 15C

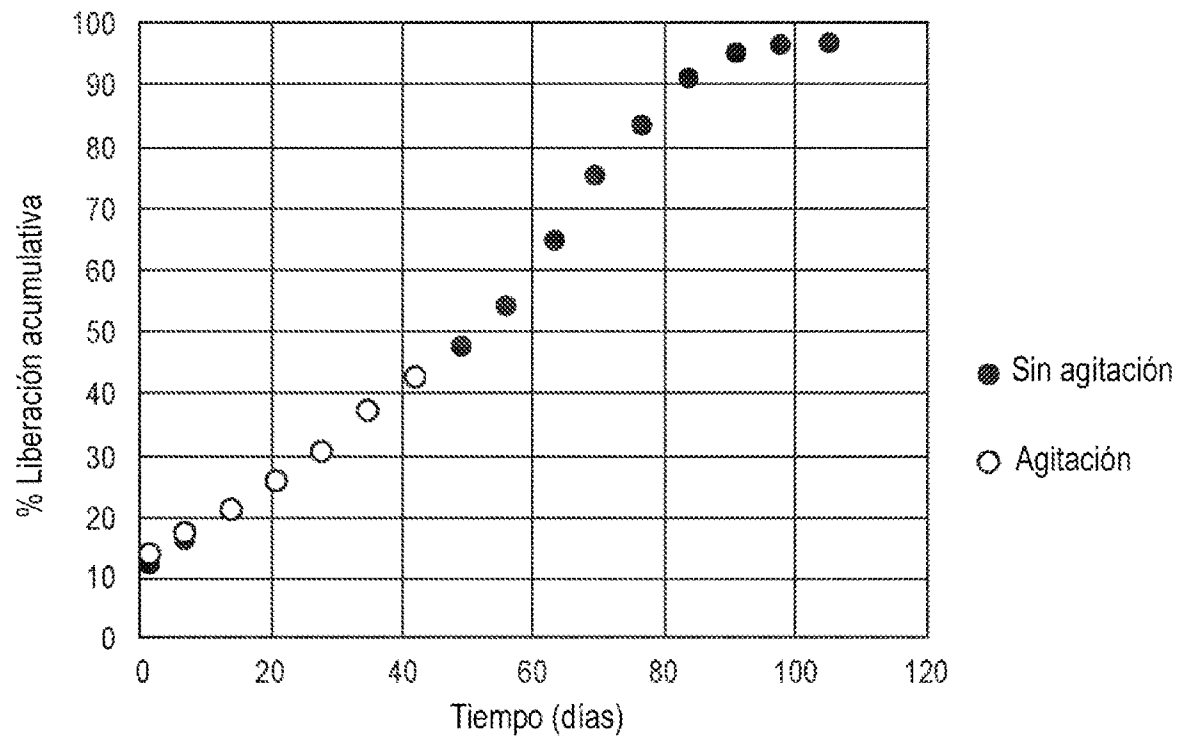


FIG. 16